日本水産学会誌

第二十二巻 第八号

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 22, No. 8, 1956

目　　次

昭和三十一年

日　本　水　産　学　会

The Japanese Society of Scientific Fisheries

TOKYO

CONTENTS

* In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications hould be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokaiku Suisan Kenkyujo Tsukishima, Kyobashi, Tokyo, Japan.

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する2名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿1篇の長さは原則として刷上り4頁（表題，200語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約7000字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（4頁計7,200円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として200語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと，）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

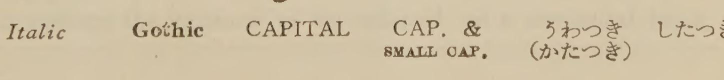
投稿に関する注意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事）。尚文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。X=(1+P)(N—50)円 P：頁数，N：別刷数（50部を単位とする）従つて50部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。（50部当り300円）
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に2段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。



Italic　　Gothic　　CAPITAL　　CAP. & SMALL CAP.　　うわつき（かたつき）　　したつき

4. **表題**　主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（I，II）にして（――）でつなぎ数字の後に（.）をつける。
英文表題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。

5. **著者名**　邦文では連名の時は（・）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。

6. **所属**　著者名の下に（　）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Itaric* にする。

7. **図表**　表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1，Table 1）を用いる。

8. **附図**　附図は1頁大の図版で（Plate）とし，なるべく篇末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。

9. **生物名**　邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Itaric*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（　）で囲まない事。

10. **化学名**　邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英字を用いねばならない時は Small で入れる。

11. **人名**　まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。

12. **単位及び記号**　単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω, μ, γ, N, M, pH，及び方位の N, S, E, W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ l，高さ h）の如く *Itaric* にする。

13. **邦文本文中の外国語**（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。

14. **文献**　本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビア数字（1,2,3）を用い片カッコ（1），パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（：）で切る。雑誌名の略し方は慣用法に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Itaric* で書く。雑誌の巻番号は **Gothic** にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（――）で略してもよい。

　文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。

15. **脚註**　脚註は数字でない記号（*，**）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

Study on the Fishing Capacities of Purse Seines—I. On Distribution of Daily Catches of Purse Seines

Yûnosuke IITAKA
(*Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Maizuru*)

Introduction

In European countries, comparative trawling experiments have been conducted since World War II. These experiments have shown that not only do trawls of different dimensions and designs differ in their absolute catching capacities, but their relative efficiencies are not the same for all species of fish. Basing on the numbers of fish caught in replicate hauls on the same ground, B.B. PARRISH (1951)[1] determined the difference between the catching capacities on a predominant flatfish population of two trawls of different dimensions and designs by means of the statistical "analysis of variance". Such a study on the purse seine has not yet been made. The author intended to conduct a similar test between two different purse seines on sardine, mackerel and pilichard population, basing on the data of daily catches in replicate hauls on the same ground. For this analysis to be valid, however, the frequency distribution of daily catches by purse seine must be approximately "normal", and the variance must be the same for all groups. Therefore, as the first step in the series of studies, the frequency distribution of daily catches by a purse seine was investigated. T. YAMAMOTO (1956)[2], based on statistical data, pointed out that the frequancy distribution of the catches is approximately exponential or Poisson at the beginning and at the end of the season, and approaches normal in the middle of fishing period.

In the present paper, the test of goodnes of fit for exponential or Poisson distribution was made by means of χ^2-test on the data of daily cathes by 14 purse seins.

The Use of Transformation in Statistical Data of Catches

Experience has shown that the numbers of fish caught in replicate hauls on the same ground by a purse seine may vary widely. This variability may be caused by a number of independent factors such as local movements of the fish shoals on the fishing grounds, diurnal variations in the availability of different species to capture, slight changes in the conditions of fishing grounds and small changes in the behavior of the seine insuccessive hauls. The frequency distributions of daily catches of two purse seiners, the "Meisei-Maru" and the "Hasidate-Maru" operating in Wakasa Wan (Bay), in the summer fishing period, 1954, are given in Figure 1—a. Clearly the distribution of the catches is far from normal. Therefore, it would be unsound to apply an analysis of variance to these results without adjusting the raw data in advance.

If the form of the frequency distribution of the catches is known, it enables an appropriate transformation to stabilize the variance to be selected on a theoretical basis.

Received Sep. 7, 1956

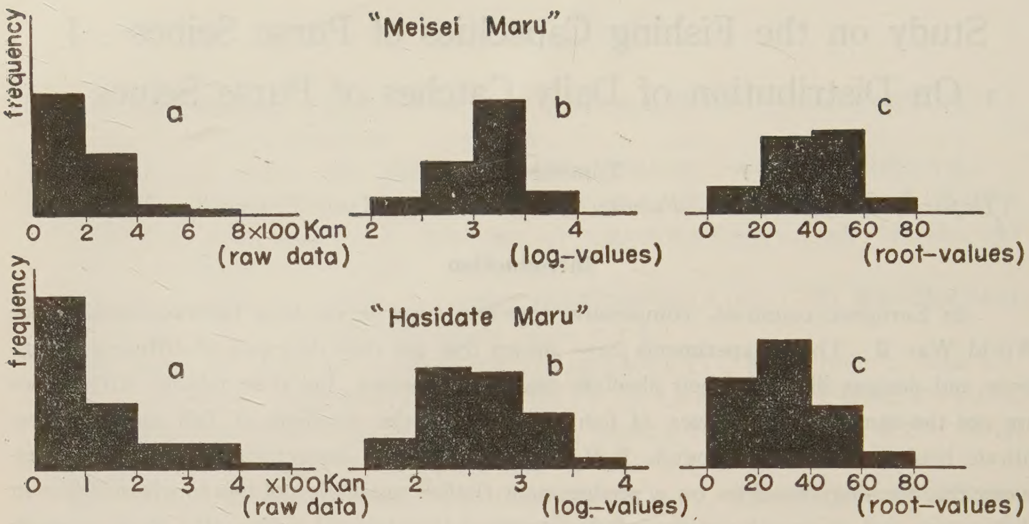


Fig. 1. Frequency distributions of daily catches of fish caught by two pures siners ; the "Meisei-Maru" and the "Hasidate-Maru". (a) distributions for raw data, (b) distributions for log. values of catches, (c) distributions for root values of catches.

Transformation If the frequency distribution is exponential, the appropriate adjustment of the catches is made by some form of logarithmic transformation. Such a transformation was used by B. B. PARRISH (1951)[1] in his study. In the present paper, the freqency distribution of daily catches of a purse seine was first assumed to be exponential, thus the logarithmic transformation was tried to test the applicability. The frequency distribution for logarithmic values of catches by the "Meisei-Maru" and the "Hasidate-Maru" are given in Figure 1—b. If the frequency distribution is Poisson, the appropriate adjustment of the catches is made by some form of square root transformation, which was first suggested by K. KIMURA (1932)[3] in his analysis of the fishery status of yellowtail. The square root transformation of catches was examined next, assuming the distribution of catches to be Poisson. The results are given in Figure 1—c.

A glance at the figures is enough to show that the frequency distribution for square root values in the "Meisei-Maru" and the one for logarithmic values in the "Hasidate-Maru" are allied respectively to normal better than others. The similar tests were made for 12 other purse seiners operating in different fishing grounds, off Senzaki, Iki Suidô (Channel), Hyûga Nada (Sea) and off Bôsyû, and it appeared that the frequency distribution for logarithmic values of the catches is allied to normal better than for square root values in 13 distributions among 17.

The Test of Goodness of Fit

To examine carefully which transformation is suitable for the analysis of variance on the catches of fish caught by purse seiners, the test of goodness of fit was made by means of χ^2-test. The results are given in Table 1, in which the probability that the value of χ^2 exceeds the obtained value is tabulated. It will readily be seen from this table that in al-

most all cases, the logarithmic transformation is more suitable than the square root transformation.

Table 1. Results of the test of goodness of fit by means of χ^2-test

Fishing Ground	Name	Type of Seine	Year	Probability of χ^2	
				Logarithmic Transformation	Square Root Transformation
Wakasa Wan (Bay)	Hasidate-Maru	D	'54	0.64	0.04
〃	Meisei-Maru	S	'54	0.37	0.45
Iki Suido (Channel)	Masutomi-Maru	S	'55	0.04	0.06
〃	Kinsyô-Maru	D	'55	0.14	0.50
off Senzaki	Singyo-Maru	D	'53	0.32	0.09
〃	Hinode-Maru	S	'53	0.69	0.09
Hyûga Nada (Sea)	Kyôhuku-Maru	D	'53	0.43	0.07
〃	Meigyô-Maru	D	'53	0.73	0.23
〃	Kotohira-Maru	D	'53	0.32	0.80
〃	〃	〃	'54	0.95	0.05
〃	〃	〃	'55	0.19	0.24
〃	Ebisu-Maru	D	'54	0.60	0.50
〃	Taisyû-Maru	D	'54	0.30	0.16
〃	Koyosi-Maru	D	'55	0.62	0.37
〃	Nittô-Maru	D	'55	0.67	<0.01
off Bosyû	——	D	'51	0.03	0.01
〃	——	〃	'52	0.62	<0.01
〃	——	〃	'53	0.04	<0.01
〃	——	〃	'54	0.17	<0.01

D : Doubleboat type, *S* : *S*ingle-boat type. The data of the "Singyo-Maru" and the "Hinode-Maru" were presented by K. Hara. The date of purse seines operating off Bôsyû are the mean daily catches, and were presented by M. Inoue.

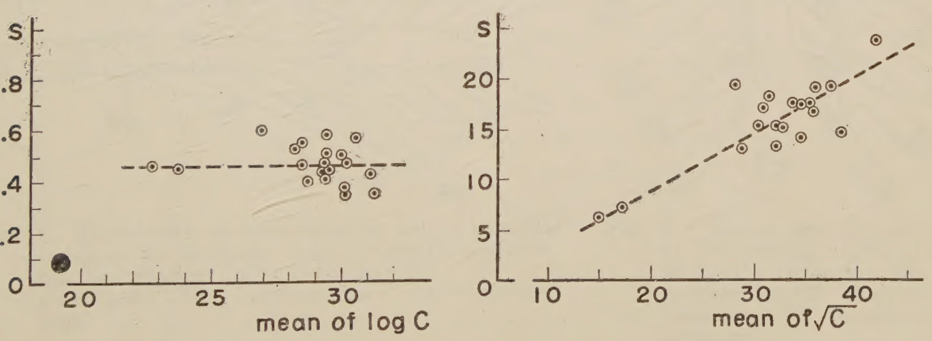


Fig. 2. Relations between the standard deviation, S, and the mean of catches, C.

In order to apply the analysis of variance to the catches of fish, it is also necessary that the variance of catches should be the same for all groups. Then, the relations between

the standard deviation, S, and the mean of catches, C, in both the cases, the logarithmic and the square root transformations, are shown in Figure 2.

According to these figures, in the case of logarithmic transformation, the standard deviation seems to be nearly constant regardless of the mean of catches ; on the contrary in the case of square root transformation, this value becomes greater with the mean of caches. Therefore, it may be considered in general that the frequency distribution of daily catches of fish caught by a purse seiner is exponential, thus, when assessing statistically the relative catching capacities of purse seines from the data of a series of replicate hauls, we must use the logarithmic values of raw cathes in the analysis of variance.

Acknowledgments

The author wishes to express his gratitude to Prof. T. KAWAKAMI for his guidance and revision, and also to Dr. M. TAUTI for his encouragement. Moreover, the author wishes herewith his thanks to Mr. M. INOUE and Mr K. HARA who answered the author's innumerable question concerning the data of catches.

References

1) B.B. PARRISH : Fishing Capacities of Lowestoft and Aberdeen Trawls when Used on Flatfish Grounds. Jour. du Cons., **17** (2), 156—171 (1951).
2) YAMAMOTO, T,: On the Characteristics of Unit Catch, Materials for Statistics and Survey, No. 6, Ministry of Agriculture and Forestry, Japanese Government, 1956, (in Japanese).
3) KIMURA, K.: Theoretical treatment on the fishing period, The Teichi-gyogyô-Kai, No. 16 (1932) (in Japanese).
4) H. BARNES : The Use of Transformation in Marine Biological Statistics, Jour. du Cons., **18**, (1), 61—71 (1952).

Branchial Skeleton of the Landlocked "Ayu", *Plecoglossus altivelis* TEMMINCK et SCHLEGEL

Tamotsu IWAI
(*Department of Fisheries, Kyoto University*)

Although CHAPMAN (1941), working with the adult specimens, presented a comprehensive description on the skeletal system of the salmonoid fish, *Plecoglossus altivelis* T. & S., The autho redescribes here the skeletal structure of the branchial apparatus of landlocked form in order to discuss the relationship between the branchial structure and feeding habits of this species. Since, in this paper, particular attention was paid to making detailed account of the pharyngeal teeth and gill-rakers, which were rather briefly treated by CHAPMAN (1941), it may serve to supplement his description.

The author wishes to express sincere gratitude to Prof. K. MATSUBARA, under whose direction this investigation was undertaken.

Materials examined : All specimens upon which the present study is based were obtained from Lake Biwa. Of these, the young fish of standard length less than 40.0 mm. were secured through the courtesy of the Shiga Prefectural Fisheries Experiment Station, and remaining materials were collected by the author. The preparations for osteological observations were made from 6 specimens measuring 55.5—71.5 mm. in standard length. For the counts of gill-rakers 110 specimens, 21.5—75.0 mm. in standard length, were employed.

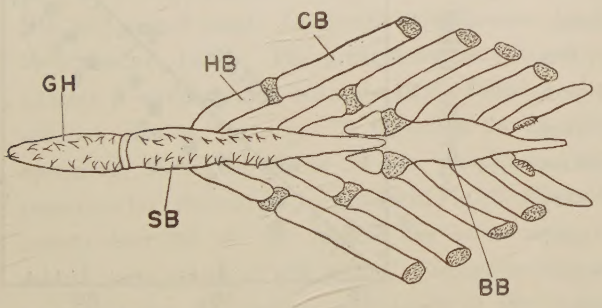


Fig. 1. Dorsal view of detached lower half of branchial arches of the 65.5 mm. (standard length) specimen. BB. basibranchial ; CB. ceratobranchial ; GH. glossohyal ; HB. hypobranchial ; SB. suprabasal bone.

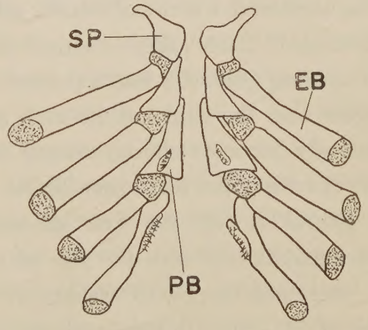


Fig. 2. Ventral view of upper half of the branchial arches of the 65.5 mm. specimen. EB. epibranchial; PB. pharyngobranchial ; SP. suspensory pharygeal.

Branchial arches (Figs. 1 and 2) : The branchial apparatus is composed of five branchial arches diminishing in size posteriorly. The median floor of the arch is composed

Received Aug. 24, 1956

of four basibranchials which lie longitudinally behind the glossohyal. Anterior three basibranchials are short rod in shape, and they are hidden in the dorsal view by the so called suprabasal bone (CHAPMAN, 1941) which bears small conical teeth in two rows as is the case with the glossohyal (Fig. 1, SB). The fourth one is a flat, slender plate having a cartilaginous projection at the posterior end. There are hypobranchials on the anterior three arches. The first bone is a slender bar and anterior edge is inserted between the first and second basibranchials. The second one is as long as first one and inserted between the second and third basibranchials. Likewise, the third hypobranchial, about half as long as the former two, fits between the third and fourth basibranchials. Both fourth and fifth arches do not contain the hypobranchial. There are five pairs of ceratobranchials : anterior three of which articulate with the posterior end of respective hypobranchials, and the remaining two articulate with fourth basibranchial directly. All are of nearly the same length, and extend upward and backward to the angle of the arch. There is a small patch of minute conical teeth on the proximal side of the anterior end of each fifth ceratobranchial. This is not consonant with the previous literature, in which a lack of pharyngeal teeth is described for *Plecoglossus* (e.g. CHAPMAN, 1941).

There are four pairs of epibranchials which articulate anteriorly with the pharyngobranchials (suprabranchials). A small patch of minute teeth is present on the proximal end of fourth epibranchial. There are four pairs of the pharyngobranchials. The first, usually termed as the suspensory pharyngeal, is strongly recurved at the distal end whereby it articulates with the cranium. The second and third are triangular in shape. The third one bears reduced patch of small teeth on the posterior extremity. The fourth is so reduced hat is obscure in ventral view. Consequently, the fourth epibranchial is attached to the third epibranchial at each anterior edge.

Gill-rakers : Along the anterior margin of each gill-arch a series of slender gill-rakers is arranged. Each raker is rather attenuate, and tapering gradually into a pointed tip. It is longest near the angle of the arch and progressively becomes shorter toward the distal ends of both upper and lower limbs. Counts of gill-rakers on the first gill-arch vary rather extensively with the size of the fish, i.e. there are 18 (5+13) rakers in a specimen of 21.5 mm. long (standard length), whereas 36 (14+22) ones in a specimen measuring 75.0 mm. It will be observed that the gill-rakers increase in number gradually with the growth of fish in both upper and lower limbs (Fig. 3). A 75.0 mm. specimen has several less rakers on each limb than the full complement of the adult fish,

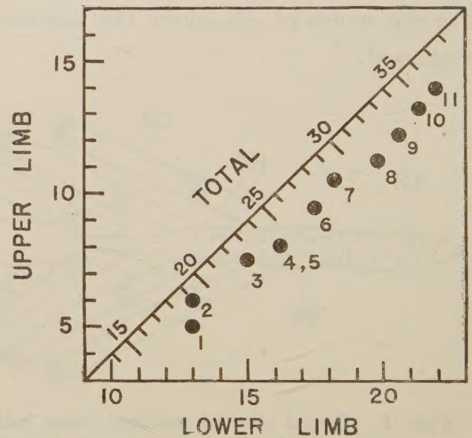


Fig. 3. Increase in number of gill-rakers on the first gill-arch with growth of the landlocked *Plecoglossus*. Each black circle is the average value of 10 specimens.
1. 21.5-25.0 mm. in standard length ;
2. 25.1-30.0 mm. ; 3. 30.1-35.0 mm. ;
4. 35.1-40.0 mm. ; 5. 40.1-45.0 mm. ;
6. 45.1-50.0 mm. ; 7. 50.1-55.0 mm. ;
8. 55.1-60.0 mm. ; 9. 60.1-65.0 mm. ;
10. 65.1-70.0 mm. ; 11. 70.1-75.0 mm.

which, according to CHAPMAN (1941), has 45 (19+26). In their studies on the Pacific hake, *Merluccius productus* (AYRES), AHLSTROM and COUNTS (1955) stated that the full complement of 18 gill-rakers (4+14) is usually obtained by about 25.0 mm. in length. It seems that formation of full complement of gill-raker in *Plecoglossus* is much delayed in comparison with that of the Pacific hake, though number of gill-rakers of the latter shows a considerable low value.

Considerations on the feeding habits : Two functions, respiration and a part of feeding, are attributed to the teleostean branchial apparatus. The gill-lamellae will serve the former function, and gill-rakers and pharyngeal teeth are chiefly dealt with the latter one. The latter relationships would be discussed below.

The evidence is overwhelming that there are two rather distinct feeding phases in the life history of *Plecoglossus*. These are characterized as follows : Young fish inhabiting the sea feed on zooplankton which strained out from the water. However, the diet of adult fish inhabiting the river is composed chiefly of such minute organisms as adherent diatoms (UEDA and OKADA, 1935; MIYADI, et al., 1952). In this study, no detailed analysis of the food is made on the landlocked form, but, insofar as author's observation is concerned, minute algae seemed to be important diet. Several special adaptations are to be recognized in *Plecoglossus* that make possible the peculiar feeding habits. The unique intraoral flap and comb-like teeth will serve as the example (MATSUI, 1936). The developing comb like teeth are first seen in young specimen of about 35.5 mm. long (IWAI, 1956). With growth, the distinguishing characteristics of this dentition become enhanced. It is then completely arranged when the change is occurred in food habits from feeding on zooplankton to browsing on algae.

It is generally believed that the close-set gill-rakers are one of the striking characteristics of most micro-organism feeders. For example, the adult sardine, *Sardinops melanosticta* (T. & S.) is furnished with more than 100 rakers on the first gill-arch (NAKAI, 1938) and the gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* (LE SUEUR), has more than 300 (HUBBS and WHITLOCK, 1929). The great difference in raker counts between the sardine and *Plecoglossus* is exemplified. NAKAI (1938) found a sharp increase in number of gill-rakers of sardine, that is, there are 29 rakers in the 24.3 mm. specimen, 50 rakers in the 37 mm. specimen, 96 rakers in the 94 mm. specimen, and 100 rakers in the 108 mm. specimen respectively. As may be judged from Fig. 3, *Plecoglossus* shows consistently lower value of counts than that of the sardine for each stage of the growth. Notwithstanding rather raker coarse mesh of gill-rakers, *Plecoglossus* is capable of procuring a minute food. It is suggested that the feeding mechanism of this species may be aided by the extraordinary development of comb-like teeth which facilitate the obtaining minute adherent diatoms.

As already noted above, although CHAPMAN (1941) reported a nothing of teeth on the fifth ceratobranchials or on the pharyngobranchials, the much reduced teeth are assumed on either bone of the landlocked form. In almost cases for which descriptions are available, the voracious feeders bear highly developed pharyngeal teeth and micro-organisms feeders have reduced one. Accordingly, it may be surmised that the reduction of the pharyngeal dentition in *Plecoglossus* is closely related to its peculiarities of the feeding mechanism.

References

Ahlstrom, E. H. and R. C. Counts : *U. S. Dept. Interior, Fish & Wildife Serv., Fish. Bull.*, (99) : 295—329 (1955).

Chapman, W. M. : *Jour. Morph.*, **68** (3) : 425—455 (1941).

Hubbs, C. L. and S. C. Whitlock : *Pap. Mich. Acad. Sci., Arts & Letters,* **10** : 461—482 (1929).

Iwai, T. : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **22** (2) : 12—15 (1956).

Matsui, I. : *Bot. & Zool.*, **4** (11) : 1906—1912 (1936).

Miyadi, D., M. Kawabata and K. Ueda : *Kyoto Univ. Fac. Sci. Contr. to Physiol. & Ecol.*, (75) : 1—25 (1952).

Nakai, J. : *Suisan Kenkyu-Shi*, **33** (12) 547—561 (1938).

Ueda, S. and Y. Okada : *Bull. Jap. Soc. Sci Fish.*, **4** (4) : 233—238 (1935).

アコヤガイ及びイケチョウガイの生化学的研究—II. アコヤガイとイケチョウガイの各組織より Sulfomucopolysaccharides の分離

堀口 吉重
(三重県立大学水産学部)

Biochemical Studies on *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER) and *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS)—II. Separation of Crude Sulfomucopolysaccharides from Various Tissues of *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER) and *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS).

Yoshishige HORIGUCHI

In order to establish whether sulfomucopolysaccharide and sulfatase participate in the formation of the pearl and shell, the amount of crude sulfomucopolysaccharides in various organs of *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER) and of *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS) was measured by the method of MEYER, and the chemical composition of them was investigated. The amounts of crude sulfomuco-polysaccharides were about 36 per cent in dried matter of mantle mucilage, 8.7 per cent in adductor muscle, and less than 3 per cent in other organs of *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER), and 13.6 per cent in mantle, 12.5 per cent in viscera etc., and less than 1 per cent in gill of *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS), respectively. Crude sulfomucopolysaccharide of *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER) contains nitrogen, hexosamine, reducing sugar, sulfate and calcium, while that of *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS) contains reducing sugar, sulfate, calcium and traces of nitrogen and hexosamine. From the fact that plenty of sulfomucopolysaccharide was found specially in mucilage of the mantle, the secretory organ for the shell matter, it may be considered more probable than before that sulfomucopolysaccharide participates in the formation of the shell and the pearl.

I. 緒　　言

動物硬組織の石灰化の機構については，主に脊椎動物を対象とした多くの業績が報告されている。脊椎動物の骨骼と，貝殻とでは，前者が主に燐酸石灰よりなるのに対し，後者は主として炭酸石灰よりなる違いがあり，骨化と貝殻形成がすべて同様機構で行われるとは考えられないが，貝殻形成機構を究明するのに際して骨化機転の知見は極めて役立つものと思われる。骨化機転に対しては，McLEAN[1] は非石灰化組織と石灰化組織を区別出来る因子を骨骼形成の“局所因子”としたが，ARMSTRONG[2] はこの局所因子は恐らく acid mucopolysaccharides 特に chondroitin sulfuric acid を有するであろうと言っている。又 SOBEL[3] によれば in vitro における軟骨の骨化は chondroitin sulfuric acid の作用に基くものと考えられている。一方，貝類において左右田，江上[4] はボウシュウボラ粘液より charonin sulfate と言う sulfomucopolysaccharide を分離し，又ボウシュウボラ，アワビ，マイマイ等に強力な sulfatase 作用[5] を認めており，Ca に対する硫酸エステルの特性よりこれらの物質が貝殻形成に一要因として関係するものと推定している。一方田中，波多野[6] はアコヤガイの外套膜粘液に酸性蛋白，又は誘導蛋白が存在し，これらが Ca と結合する性質より介殼形成に利用される可能性を予想した。

1956 年 9 月 24 日受理

著者等[7]は sulfomucopolysaccharides 及び sulfatase の反応系が貝殻の形成に関与すると言う左右田の推測を確める目的で，先にアコヤガイ各器官の sulfatase 作用力を比較し外套膜，肝臓等が強力であることを報告した。

今回はその基質である sulfomucopolysaccharides の分離を試みた。Sulfomucopolysaccharides は一般に蛋白質，炭水化物等と結合して存在するので，その分離抽出は定量的に行い難く，抽出中一部は変性，分解が生ずる。抽出には中性塩溶液，アルカリ液を用いる方法もあるが，本実験では比較的分解が少く，抽出率の良好と思われる MEYER 法[8]に従いペプシン，トリプシンにより組織を出来るだけ水溶化した後，醋酸々性，アルコール沈澱等により粗製の sulfomucopolysaccharides を分離した。その結果，アコヤガイでは外套膜，特にその粘液と閉殻筋に，イケチョウガイでは外套膜と，足を含む内臓に多量の粗 sulfomucopolysaccharides が存在することを認めた。

II. 実 験 の 部

i）試 料 貝

A. アコヤガイ *Pteria (Pinctada) martensii* (DUNKER)……1956年3月29日三重県英虞湾産の 3～4 年生アコヤガイ約 50 個を用い，閉殻筋，鰓，外套膜粘液，外套膜残渣，内臓等に分割した。外套膜は1個宛ピンセットを用いて出来るだけ粘液を分離した。

B. イケチョウガイ *Hyriopsis schlegelii* (V. MARTENS)……滋賀県琵琶湖産イケチョウガイを約7カ月間本学部内の溜池に飼育し，1956年3月18日3年貝 10 個につき鰓，外套膜，足を含む内臓に分割した。

ii） Sulfomucopolysaccharides の抽出分離法

MEYER[8]がウシ角膜より分離した方法を応用した。

即ち各器官の新鮮物 30g に 150cc の水を加え5分間ホモジエナイザーにかけ，トルオールを添加する。8N HCl で pH 1.5 とし，ペプシン 0.5g 宛を加え，37°C に保ち時々 pH を 1.5 に補正し，72 時間おく。次に 6N NaOH で中和しトリプシンを 0.7g 宛添加し 37°C で 24 時間おく。消化液は濾紙で濾過して不溶物を除き，固体の醋酸カルシウムを 1l 当り 25g を加え，氷醋酸を 0.25N 迄加える。次にエタノール 1.2 容を加え，24 時間 4°C に放置後遠心する。沈澱は 80% エタノールで洗い，100cc 5% の醋酸ソーダ，0.5N 醋酸混液にとかし，クロロホルム，アミルアルコール混液を加え攪拌する。遠心して水層をとり，1.5 容のエタノールを加える。沈澱を遠心してエタノールで洗い，0.5N 醋酸を含む 5% 醋酸カルシウム 100cc に溶かす。1.2 容のエタノールを加え 4°C で 24 時間放置後遠心し，沈澱はエタノールで洗い減圧乾燥して白色～灰白色の粉末を得た。

iii） Sulfomucopolysaccharides の各構成々分の分析

窒　素……ミクロケルダール法。

還 元 糖……加水分解条件は 5% H_2SO_4 で 100°C，1 時間が適当である。水解後 $Ba(OH)_2$ で中和して $BaSO_4$ を除き，上澄液について SCHAFFER，SOMOGYI 法[9]により定量した。

Hexosamine……5% H_2SO_4 で加水分解し還元糖を測定した試料の一部をとり，ELSON，MORGAN 法[10]を改良した SCHLOSS 法[11]に従いアセチルアセトン試薬とエールリッヒ試薬により発色させ，エルマ光電比色計を用い，530mμ で比色した。標準曲線は再結した glucosamine HCl と N. B. C. 社製 galactosamine HCl を用いて作製した。

Sulfate……2N HCl で2時間加水分解した後，ALICINO 法[12]を応用した MEYER *et al* 法[13]により定量した。即ち加水分解物は真空乾燥した後，水に溶かし 95% エタノールを加え，フエノールフタレイン中和後，ロジソン酸加里を指示薬として 0.02M $BaCl_2$ で滴定した。別に酸加水分解物を NH_4OH で中和し沈澱物を濾別した後，弱酸性下に $BaCl_2$ を加えて $BaSO_4$ として沈澱させ，重量法により定量した。

Ca……柳沢法[14]に従い 1-hydroxy-4 chloro-2. 2-diazobenzen-1. 8-dihydroxynaphthalene-3. 6-disulfonic acid disodium salt を用いて発色させ，エルマ光電比色計により 620mμ で比色した。

III. 実験結果と考察

アコヤガイとイケチョウガイの各器官より分離した粗製の sulfomucopolysaccharides の量とその組成を Table 1 及び Table 2 に表示した。アコヤガイでは外套膜の粘液より乾物当り約 37%，閉殻筋より 8.7% を分離したが，その他の器官には比較的少い。イケチョウガイでは外套膜より 13.6%，足及び内臓より 12.5 % を分離したが鰓には極めて少い。一般に，抽出された粗製の sulfomucopolysaccharides は数種類の混合物よりなることがあり，又夾雑物として蛋白，グリコーゲン等を含むので，正確に含量を比較するにはその組成を明らかにすると共に，不純物量を差引いて考慮する必要がある。

Table 1. Amount and chemical composition of crude sulfomucopolysaccharides found in various organs of *Pteria (Pinctada) martensii* (Dunker)

Organ	Crude matter		Composition (%)					
	mg. fresh matter 1g.	mg. dry matter 1g.	N	Crude protein	Hexosamine	Reducing sugar	Sulfate Sulfur	Ca
Adductor. muscle	17.40	87.00	0.48	3.00	trace	55.50	0.48	6.00
Mantle-mucilage	19.30	371.15	6.89	43.08	4.35	39.00	1.76	2.30
Mantle-residue	4.04	31.36	5.21	31.99	2.91	34.40	0.48	1.90
Gill	1.50	21.90	2.40	15.01	3.24	37.60	0.91	2.20
Other organs	3.07	14.90	1.98	12.40	2.70	28.80	2.70	3.75

Table 2. Amount and chemical composition of crude sulfomucopolysaccharides found in various organs of *Hyriopsis schlegelii* (V. Martens)

Organ	Crude matter		Composition (%)					
	mg. fresh matter 1g.	mg./dry matter 1g.	N	Crude protein	Hexosamine	Reducing sugar	Sulfate-Sulfur	Ca
Mantle	6.80	136.00	0.43	2.61	trace	59.90	1.12	1.10
Viscera, Foot	18.55	125.34	0.64	3.92	trace	73.70	1.28	1.10
Gill	0.05	0.42	—	—	—	-	—	—

Levene[15] によれば chondroitin sulfuric acid は d-glucuronic acid，d galactosamine，acetyl，sulfate の等モルよりなる。従ってこれら各構成分の検出と定量により，chondroitin sulfuric acid の存在が確認され，その含量が推定される。分析結果よりアコヤガイは各器官共窒素，還元糖，hexosamine，sulfate，Ca を含み glucuronic acid，acetyl は未確認であるが，chondroitin sulfuric acid の存在が推定される。又本物質は外套膜粘液の他，閉殻筋，内臓表面の粘質物中にも比較的多く含まれ，粘質物を除去した残渣中には少い。

アコヤガイ外套膜の粘液の主成分を chondroitin sulfuric acid と仮定し hexosamine 含量より計算すれば乾物当り約 5% の純 chondroitin sulfuric acid を分離したことになる。これを他の動物軟骨中の chondroitin sulfuric acid 含量と比較するのに，Winter[16] はブタ鼻隔膜中 41%，宮崎[17] はウシ，ウマ，ブタの気隔膜より 36～39%，Meyer & Smith[18] は種類不明の乾燥軟骨より 25%，Einbinder & Schubert[19] は鼻管軟骨，ウシの気管軟骨より 13%，ウシの鼻隔膜より 19～23%，Shetlar & Masters[20] は人の肋骨より 3.2～19.1%，左右田，江上，堀米[21]はサメ軟骨より 20% を分離しており，アコヤガイ粘液では軟骨に比してその含量は少い。然し抽出率を考慮すれば 5% 以上の含量である。イケチョウガイでは各器官共窒素と hexosamine が極めて少く chondroitin sulfuric acid は殆んど含まれず，polysaccharide と sulfate を主成分とする。外套膜は貝殻物質の主要分泌器官とされているので，外套膜と貝殻間に介在する粘液に多量含まれる sulfomucopolysaccharides は前記[5] の推定の如く貝殻の形成に関係する可能性がより一層増大した。然しアコヤガイとイケチョウガイの sulfomucopolysaccharides の構成々分には明瞭な差異があり，前者は hexosamine を含むが後者には殆ど存在しない。一方，両貝の共通点は加水分解により多量の還元を生ずることと sulfate を有することであり，Ca の代謝に sulfate が関係する可能性が強い。

Ⅳ. 要　　約

1. 貝殻形成に関係する一因子として推定されている sulfomucopolysaccharides を Meyer 法に従つてアコヤガイとイケチョウガイの各器官より分離した。

2. アコヤガイでは外套膜粘液より乾物に対し約37%，その他器官では 10% 以下，イケチョウガイでは外套膜より 13.6%，足及び内臓より 12.5% の粗製 sulfomucopolysaccharides を得た。

3. アコヤガイとイケチョウガイの sulfomucopolysaccharides ではその構成々分上明瞭な差異があり，アコヤガイでは窒素，還元糖，hexosamine，sulfate，Ca を含むが，イケチョウガイでは窒素，hexosamine が殆どなく，還元糖，sulfate，Ca よりなる。

終りに，本研究に種々御指導を賜った三宅正人教授に対し謹んで感謝の意を表する。又東京大学農学部橋本芳郎助教授より galactosamine HCl を，滋賀県漁業協同組合連合会よりイケチョウガイの提供を賜った。併せて深謝の意を表する。

追記：1956年8月25日開催された第一回日本アイソトープ会議（東京）の論文抄録集によれば，田中正三，波多野博行氏（京都大学理学部）はアコヤガイ粘液中のアセトン沈澱非透析性可溶区分の Ca^{45} 比放射能が特に大きく，その成分は硫酸を含んだ酸性の強い糖蛋白であることを認め，アコヤガイの介殻形成における糖蛋白の重要性を指摘された。詳細は「第一回日本アイソトープ会議論文集」として刊行される予定であり参照され度い。

文　　献

1) McLean : *Ann. Rev. Physiol.*, **5**, 79 (1943).

2) Armstrong : "A Symposium on Phosphorus Metabolism," Baltimore, William & Bentley Ⅱ, (1952) pp. 698.*

* 佐々木哲丸："物質代謝"（1），医歯薬出版，東京，(1955)，pp. 650 より引用

3) A.E. Sobel, A. Hanok : *J. Biol. Chem*, **199**, 669 (1952).

4) T. Soda, F. Egami : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **13**, 652 (1938).

5) 左右田徳郎：化学の研究，**1**，49 (1948).

6) 田中正三，波多野博行：日化，**74**，8 (1953).

7) 堀口吉重，三宅正人：日水誌，**19**，957 (1954).

8) K. Meyer, A. Linker, E.A. Davidson, D. Weissmann : *J. Biol. Chem.*, **205**, 611 (1953).

9) 江上不二夫："多糖類化学，" 共立出版社，東京，(1955)，pp. 54.

10) L.A. Elson, W.T.J. Morgan : *Biochem. J.*, **27**, 1824 (1933).

11) B. Schloss : Thesis, New York University (1948).*

* J. Einbinder, M. Schubert : *J. Biol. Chem.*, **185**, 725 (1950). より引用

12) J.F. Alicino : *Anal. Chem.*, **20**, 85 (1948).

13) K. Meyer, M.M. Rapport : *Arch. Biochem.*, **27**, 287 (1950).

14) 柳沢　文正："カルシウム及びマグネシウム新定量法と代謝，" 光文堂，東京，(1955)，pp. 5-8.

15) D.A. Levene : "Hexosamines and Mucoproteins," (1922).*

* 9）の pp. 314 より引用

16) W. Winter : *Biochem. Z.*, **246**, 10 (1953).

17) T. Miyazaki : *J. Biochem. Japan*, **20**, 211 (1943).

18) K. Meyer, E.A. Smith : *J. Biol. Chem.*, **119**, 507 (1937).

19) J. Einbinder, M. Schubert : *J. Biol. Chem.*, **185**, 725 (1950).

20) M.R. Shetler, Y.R. Masters : *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, **90**, 31 (1955).

21) 左右田徳郎，江上不二夫，堀米悌二：日化，**61**，43 (1940).

テトラゾリウム塩によるオゴノリの傷害・生死の判定について

尾形英二
（大阪市立大学理工学部）

Application of Tetrazolium Salt as a Viability Indicator for *Gracilaria verrucosa* (HUDSON) PAPENFUSS

Eizi OGATA

While the visual estimation of the TTC reduction by *Gracilaria* was almost impossible due to its dark reddish-brown colour and compactly parenchymatous structure, it was found effective to employ the quantitative determination of the formazan production by the optical density measurement at 490 mμ following the extract with toluene (Fig. 1). Using 0.2 g. in fresh weight of material, incubation for 3 hours at 30°C. in 1 mg./cc. solution of TTC gave desirable results (Fig. 2). Illumination and evacuation were not indispensable (Table 2). Differences were also distinguishable by visual comparison of the extracts in their colour gradation.

Significantly serious injury discriminated by the above procedure, was caused by copper sulfate of 10^{-5} M or above (Table 3), exposure to diluted salinity of 25% or below (Table 4), elevated temperature of 31°C (Table 1 and 5) and 66% relative humidity for 3 days or over (Table 6), leading to death after 5 days.

海藻のうちでも，アサクサノリ，ヒトエグサ等葉状体のものは傷害・生死の判定が比較的容易である[1),2)]特に TTC の還元による呈色を比べる方法は良好な結果がえられる。

ところがオゴノリは枝状に分岐した体制をもち，組織は緊密で内層と外層の構成がちがう。また表層の同化組織は地色が濃い暗紅褐色なので，外観的には勿論 TTC による呈色の差を見わけることもむつかしい。

このようなオゴノリについては，TTC 反応によつて藻体内に生成されたフォルマザンを抽出し，その抽出液の色調の比較またはその分光的測定による方法が既報[3)]の結果からみて有利である。

こゝでは，1956 年5～6月にかけて，大阪湾内に自生するオゴノリ *Gracilaria verrucosa* (HUDSON) PAPENFUSS でおこなつた結果についてのべる。

反応条件の検討

TTC 濃度と反応時間 反応に適当な濃度をしらべるために，0.5，1.0，2.0，4.0 mg/cc の濃度の TTC 海水溶液（海水は 1/2 にうすめたもの）を作り，そのおのおのの 6cc 中にオゴノリ片 0.2 g づつをひたし，30°C，排気，照明下で反応させた。

一定時間反応させた各サンプルから，フォルマザンのトルオール抽出液を得るために既報の方法[3)]で抽出する。その抽出液の吸収曲線は第1図のようである。

すなわち，1時間の処理では 4 mg/cc でもつとも多く還元され，処理した TTC 濃度が低いとその 490 mμ におけるピークの吸光度も低くなる。クロロフイル等による吸収が低波長部に僅かにみられるが，490 mμ におけるフォルマザンの吸収には影響が少い。

TTC 濃度を高めると藻体による還元量はふえる。しかし処理時間が長くなるとかえつて高濃度で還元量がへる。その関係を 490 mμ における吸光度で示したのが第2図である。

この図からわかるように，反応時間が3時間で，TTC 濃度が 2 mg/cc のときがもつとも反応がけんちよで効率がよいのであるが，1 mg/cc でも3時間の反応で相当効率がよいので，以下の実験ではすべて 1mg/cc，3時間を反応の基準とした。

1956 年8月 24 日受理

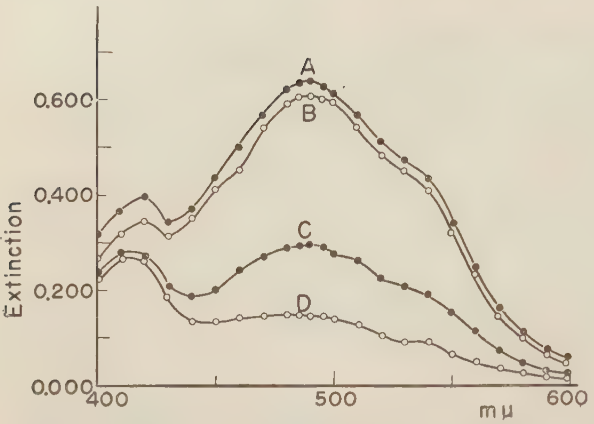


Fig 1. Spectral absorption curves of toluene extracts from 0.2 g. of *Graclairia* thalli. Incubated for 1 hr. at 30°C under illumination and evacuation in solutions of different TTC concentrations. 4.0 (A), 2.0 (B), 1.0 (C) and 0.5 (D) mg./cc. TTC respectively. Peaks at 490 mμ represent formazan.

4 mg/cc のよのな高濃度の TTC 溶液中に長時間おかれると，かえつて還元量がへるのは，このような条件では藻体が多少害をうけるためと思われる。

温度　TTC 反応（1 mg/cc の場合）におよぼす温度の影響を，暗中で排気せずにしらべた。3時間処理の結果を第1表に示す。25～30°C の間で還元量が多く 30°C で最高の値がみられる。32°C 以上では，あきらかに高温による傷害のためと思われる反応の低下がみられる。室温（12°C）では反応不充分である。

排気　23°C と 30°C において，排気による反応促進の効果をみたが（第2表）オゴノリについては一般に排気の操作はあまり効果がみられない。

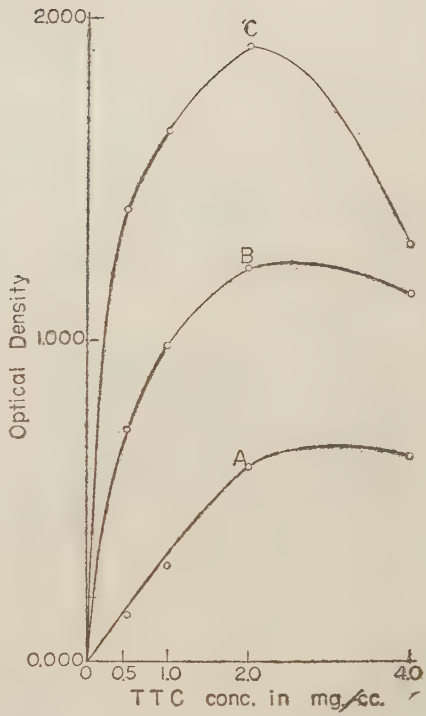


Fig. 2. Relation of formazon production by *Gracilaria* (0.2 g.) to TTC concentration used in testing for varied durations. Optical density at 490 mμ. Test conditions the same as in Fig. 1. A : 1, B ; 2, C : hours.

照明　排気の条件と同時に照明の効果をしらべると，やはり第2表に示すように，照明もほとんど反応促進に効果がみられない。温度や排気の有無にもあまり関係がみられない。

Table 1. Relation of formazan production (optical density) by 0.2 g. of thalli to varied temperature. Note a decline above 32°C. Tested for 3 hrs. in 1 mg./cc. TTC solution under illumination and evacuation

Temperature	12	25	28	30	32	34
Optical density at 490 mμ	0.220	1.490	1.350	1.800	0.820	0.370

傷害と TTC 還元量との関係

硫酸銅の影響　0.2 g のオゴノリ片を今までとおり 10^{-3}～10^{-8} モルの硫酸銅海水溶液のシリーズに2日間ひたしたのち，2時間 TTC 反応（照明・排気・30°C）させ，生成されたフォルマザンを抽出してその吸光度を測定した。その結果は第3表にみられるように，硫酸銅による傷害が強いほど吸光度がへり，したがって TTC 還元能が減少することがわかる。この傾向はアサクサノリ，ヒトエグサ[3]の場合と全く同様である。

第3表において，10^{-6} モル以下の硫酸銅濃度では吸光度が 1.000 以上を示すように，今までのべた条件による抽出では吸光度 1.000 以上を一応健全とみとめてよい。これまでの実験において全く健全とみとめ

Table 2. Relation of formazan production (optical density) to illumination and evacution at different temperatures. See Table 1 for test procedure. Incubated for 3 hrs. in 1 mg./cc. solution of TTC

Temp. (°C)	Evacuation / Illumination	Evacuated	Open
23	Illuminated	2.000	1.730
	Dark	2.250	1.710
30	Illuminated	1.900	1.570
	Dark	1.750	2.130

Table 3. Formazan production at 30°C in *Gracilaria* as affected by previous exposure to $CuSO_4$ for 2 days. Note the decline representing severe injury and death caused by increased concentrations. See Table 1 for test procedure

$CuSO_4$ conc. (M in sea water) used for pretreatment	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Optical density at 490 mμ of toluene extract from 0.2g. of thalli	0.058	0.148	0.780	1.050	1.700	1.860
Optical density at 490 mμ accounting for native pigments	0.045	0.068	0.078	0.115	0.125	0.185
Net opictal density accounting for formazan	0.013	0.080	0.702	0.935	1.575	1.675
TTC reduced per 0.2g. of thalli (mg.)	0.0002	0.001	0.095	0.128	0.215	0.230

られるものは，大体その吸光度が 1.300～2.000 の間にあって必ずしも一定でない。しかし，その時の健全なものの値を基準とすれば，還元の程度（吸光度）は傷害とともに減少してその程度を反映することはいうまでもない。

吸光度の測定が困難なときは，単に抽出液のみによる判定も可能である。すなわち，抽出液の呈色程度は肉眼でもその差がわかり，吸光度測定による傷害判定の順序とよく一致する。

クロロフイル．カロチン等の影響　トルオール抽出液中にはクロロフイル，カロチン等が当然抽出されてくる。この影響はフォルマザンの吸光にはあまり問題にならないが，藻体による TTC 還元の絶対量をより正確に求める場合には知る必要がある。

第3図は TTC 反応をさせない試料（0.2g）のトルオール抽出液が示す吸収曲線であるが，やはり傷害をあたえると吸収曲線が低下することは，ヒトエグサ[2] のアルコール抽出液の場合と同様である。これらの色素の 490mμ における吸光度は図にみられるように僅かなものであるが，影響が皆無とはいえないので，TTC と反応させた試料の抽出液の吸光度から反応させない対照試料の抽出液の値（第3図）をさしひいて，フォルマザンによる正味の吸光度を知りそれから TTC 還元の絶対量を求めたのが第3表に示してある。

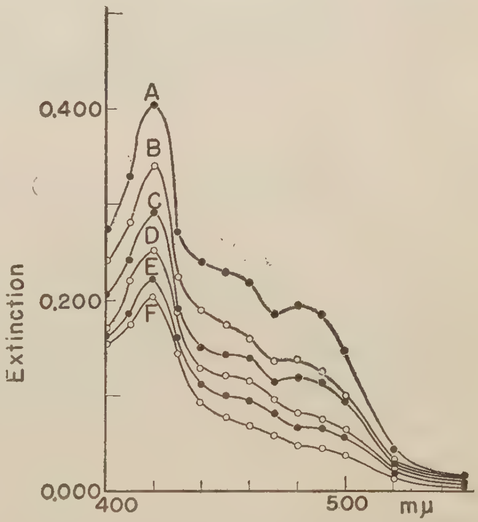


Fig. 3. Absorption curves of toluene extracts as effected by $CuSO_4$ (2 days pretreatment) A : Control. B : 10^{-7}, C : 10^{-6}, D : 10^{-5}, E : 10^{-4}, F : 10^{-3} M, rerpectively. Note the gradual decline in native pigments.

低鹹の影響　普通海水をそれぞれ 0, 25, 50, 75, 100% になるようにうすめたシリーズに 3 日間ひたしたものについてしらべたところ，第4表のようになつた。25%海水と全淡水中では，還元能が大巾に低下

している。50%以上では，3日間ではほとんど影響がみとめられない。

Table 4. Formazan production at 30°C (optical density) as effected by lowered salinities. Pretreated for 2 days

Salinity (per cent of sea water)	0	25	50	75	100
Optical density	0.630	0.620	1.100	1.280	1.450

温度の影響　23～34°C までの間の海水温度によつてうける藻体の傷害程度をしらべた。各温度の定温器中で一定温度にした海水中に一定期間ひたしたオゴノリ片 0.2g づつを TTC 反応させそれをトルオルールで抽出した結果（第5表），1日では 31°C 上で影響があらわれ 34°C では相当いたんでいる。2日後には 28°C でもやゝ影響があらわれ，31，34°C では完全に死んでいる。3日たつと 28°C でも被害いちじるしく，31，34°C では藻体がくずれて処理が困難になる。

Table 5. Formazan production at 30°C. (optical density) as effected by previous exposure to varied temperatures

Temp. (°C.) / Duration (day)	23	25	28	31	34
1	1.500	1.350	1.150	0.685	0.285
2	2.000	1.100	0.960	0.075	0.095
3	1.500	1.150	0.420	0.105	0.095
5	1.070	1.100	0.440		

乾燥の影響　飽和塩類水溶液（$NaNO_2$）で恒湿（66%，20°C）にした密閉器中で乾燥させた藻体片について同じくその還元能をしらべたところ，第6表にみられるように3日目までは多少還元能は下つてもまだ生きているが，5日目のものは相当干上つてすつかり死んだものとみとめられる。

Table 5. Formazan production at 30°C. as effected by previous desiccation at 20°C. and 66% rel. humidity

Duration (day)	1	2	3	5
Optical density	1.375	0.900	0.900	0.170

要　　　結

オゴノリにおける TTC 反応の定量的測定のための好適条件は次のようである。TTC 濃度は 2mg/cc がもつとも反応の効率がよいが，1mg/cc でも判定には充分である。温度は 30°C が一番よい。30°C をこすと害がみられ還元能が低下する。反応時間は3時間がよい。

いろいろな影響によるオゴノリの TTC 還元能の低下を，この方法で測定して傷害の起る条件をしらべた。

硫酸銅海水溶液中では 10^{-5} モル以上の濃度で2日間にいちじるしい害をうける。

低鹹海水中では3日後に 25% 海水以下で被害がいちじるしく，50% 以上の海水中ではあまり影響がみられない。

海水温度が高いと害をうけるが，31°C 以上では1日で弱り，28°C 以上で3日後から害がいちじるしい。

乾燥すると5日目には死ぬが，3日まではあまり変化がみられない。

この研究に対して，終始激励と便宜を頂いた三木教授はじめ，九大瀬川博士，京大米田博士，また実験にあたつて適切な助言を頂いた永井博士に心から御礼申し上げる。

文　　　献

1) 尾形英二，永井進：生理生態 **6**, 10 (1954).
2) 尾形英二：本誌，**21**, 7 (1956).
3) 尾形英二：本誌，**21**, 7 (1956).

エビ類の黒変に関する研究—I. 黒変の成因について

柿本大壱・金沢昭夫
(鹿児島大学水産学部)

Studies on the Black Discoloration of Lobster—I. Origin of Discoloration

Dai-ichi KAKIMOTO and Akio KANAZAWA

The cause of black discoloration of a lobster, *Panulirus japonicus*, was investigated and the following reselts were obtained.

1) The black discoloration was confirmed to be due to the black pigments formed by the action of an enzyme in blood on a certain constituent of the liver, as shown in Table 1.

2) The darkening, which ocurred in the mixture of blood and liver, was found to be not influenced by light (Table 2) and to be most marked at about pH 7. Below pH 4, the darkening was not recognized (Table 3).

3) As shown in Diagram 1, the black pigments were separated from the incubated mixture of blood and liver by the method of melanin separation. The black pigment II was further dividable into two pigments with their solubility in N/5 HCl and gave two spots in paper chromatography. On the other hand, the black pigment separated from the mixture of blood and L-tyrosine was insoluble in the solvent and gave only one spot. The absorption curves of these pigments, however, very slightly differed each other, as shown in Fig. 1.

鮮魚介として取扱われるエビ類は，貯蔵中屡々黒変を起し，商品としての価値を低下せしめることが多いが，この場合黒変はまず関節及び脚の基部に起り，次第に全身に波及する。その原因は血液の酸化であると言われている[1]が，MILTON *et al.*[2]はメラニン生成を認めている。動植物に在在するメラニン色素に関しては，主として遺伝学的に取扱われた研究があり[3]，又馬鈴薯に起る黒色素の研究も多いが，これ等の研究によると，黒色素は主としてメラニンの生成によるか，又は糖，蛋白質の結合した物質の生成によるものと見做される[4)5)6]。最近 KIKAWA 等[7]は毛髪の色素に関する興味深い意見を述べ，水野[8]は人工的に黒色素を生成せしむる等，多岐に亘る研究報告がある。著者はエビ類に屡々見受ける黒色素が，如何なる組織又は器官に於て最も著しく起るかに就いて定性的に観察した結果，比較的明確な知見を得たので，茲にその一部を報告する次第である。

実験の部

試料： 本研究は初めクルマエビを用い，黒色素生成についての予備的観察を行つたが，該エビは小型のため，血液の採取，各組織，器官の分割に困難を感じたので，後ではイセエビを用いて実験を進めた。なおクルマエビは，漁獲後死んだものしか得られなかつたが，イセエビは生きているものを入手できたので，血液の採取，各器官の分離が容易に行われた。

実験方法及び結果： クルマエビを丸ごと蒸溜水に浸漬し，トルオールを加えて防腐しつゝ 37°C に放置し，黒変の発生状態を肉眼的に観察したところ，24時間で体表面全体に感知し得る程度の黒褐色色素が認められた。又，同様な試料を内臓部と内臓以外の部分，即ち皮付の肉質の2つの部分に分けて，前同様トルオール防腐を施し 24 時間放置した結果，内臓部は極めて明瞭な黒色素を生成するのに対し，肉質部では肉眼

1956 年3月 20 日受理

的には黒変を起したとは思われなかつた。以上の如き，予備的な観察から黒変は内臓部に起ることが分つたので，次にエビを各組織器官に分割し，その何れの部分が黒変に関与するかを知るため，次の如き実験を行つた。即ち，生きたイセエビの皮殻を剝ぎ，まず鼓動している心臓から注射器を用いて採血し，直ちに凍結する。次に残体を解剖し，肝臓，生殖巣，胃，腸，鰓，筋肉，殻の各部に分割し，冷室に貯う。血液は空気中に放置する時は淡青色を帯びるが，外観的にみて，此の色調は黒変の時の色調とは異なつている。前述の各臓器及び血液等は，約 0.5 g 宛各々単独又は異なる 2 者を組合わせたものを試料とし，これに蒸溜水を 5 倍容加えて，ホモゲナイズし，トルオールを加え 24 時間 37°C に放置した場合の黒色素生成を観察したが，その結果は Table 1 の通りである。

Table 1. Darkening of the mixture of each organ or tissue of *Panulirus japonicus*

Tissues or organs		Blood	Liver	Muscle	Gill	Gonad	Shell	◉ Tyrosine
Blood	F*	−	+	−	−	−	−	+
	B**	−	−	−	−	−	−	−
Liver	F	+	−	−	−	−	−	−
	B	+	−	−	−	−	−	−
Muscle	F	−	−	−	−	−	−	−
	B	−	−	−	−	−	−	−
Gill	F	−	−	−	−	−	−	−
	B	−	−	−	−	−	−	−
Gonad	F	−	−	−	−	−	−	−
	B	−	−	−	−	−	−	−
Shell	F		−	−	−	−	−	−
	B		−	−	−	−	−	−

The homogenized organ or tissure was combined each other and the mixture was incubated at 37°C. for 24 hrs.
* Fresh material, ** Boiled material, ◉ Crystalline L-tyrosine, + Marked darkening,
− No darkening.

Table 1 に見られるように，組織器官を単独に放置しても黒変は起らず，又血液のみでも一般に言われる黒変は起らない。然るに，血液と肝臓を混合した場合は極めて顕著な黒色素の生成が起り，又肝臓は煮熟したものを用いても，血液が生であれば黒色素を生成し，この場合黒変の程度は生肝臓の場合と殆んど差異がない。併し血液を煮熟した場合には，生肝臓と混和しても黒色素の生成は起らない。従つて，黒色素の生成

Table 2. Influence of light on the darkening of the mixture of blood and liver

Conditions	pH	Optical density E %
Illuminated by 60W lamp from the distance of 10 min.	4	0.002
	6	0.53
	8	0.34
Kept in the dark	4	0.003
	6	0.55
	8	0.43

The mixture was incubated at 37°C. for 24 hrs. and the black pigments formed were then preciptated by the addition of six volumes of acetone to it. After washing with absolute alcohol, the pigments were dissolved in N/10 NaOH and absorbency was estimated with Filter 43.

は血液中の酵素が肝臓中の基質に作用して起る現象の様に想像される。のみならず，血液にチロジンを加えても同様な黒変が見られることから，チロジナーゼ作用が重要な役割を果していることも否定できない。

次に色素生成が光の影響を受けるか否かを知る為，次の実験を試みた。血液 0.5 g に 10 倍容の蒸溜水を加えてホモゲナイズし，これに 0.5 g の肝臓を 10 倍容の蒸溜水でホモゲナイズしたものを加え，径 5 cm のペトリー皿に入れて深さ 2 mm となし，トルオール防腐を施し，光を遮断した恒温器内で 37°C に保つ。一方，同一試料を 20 cm の距離から 60 W 電球で照射を行いつつ 37°C に保つ。24 時間後 6 倍容のアセトンを加え生成した黒色素を沈澱せしめた後濾過し，無水アルコールで洗滌後 N/10 NaOH に溶解し，フィルター 43 を用いて光電比色を行い，光による影響をみた。尚この場合，pH をマキルベン緩衝液で 4, 6, 8, として実験したが，その結果は Table 2 の通りであつた。Table 2 に示す如く，pH 7 で最も顕著な黒変が起り，光の影響は全く認められなかつた。

次に黒変を生ずる最適 pH 条件を知る為，前同様マキルベン緩衝液により pH を変えて実験した。温度，作用時間，黒変の測定方法等は前記の通りで，Table 3 の結果を得た。即ち pH 7.0 で最も黒変が著しくこの点を遠ざかるに従つて，黒色素の生成は減少する傾向を示すが，pH 4.0 で急激に黒変が抑えられる。これは黒変防止に対し重大な意義のある事実と思われる。

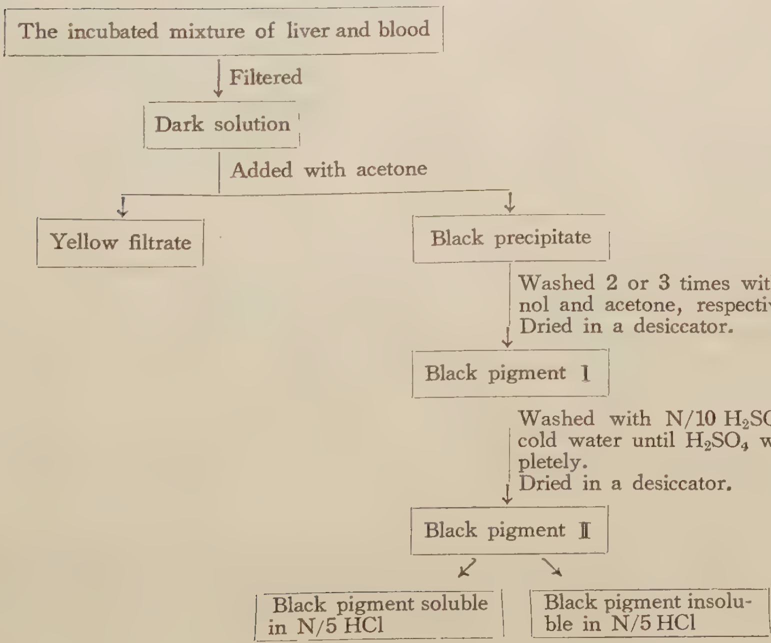
以上の知見は，主として外観的観察で得られた結果に過ぎないので，次に之等の色素は所謂メラニンであ

Table 3. Influence of pH on the formation of black pigments in the mixture of blood and liver

pH	Optical density*
4	0.0034
5	0.20
6	0.50
7	0.59
8	0.48

* See the footnote in Table 2.

Diagram 1. Preparation of black pigment



るか否か，又単一な色素の生成によるものかを知る事が必要である。依つて，血液と肝臓の混和により生成される黒色素の分離を試みた。その方法は Diagram 1 の如く，主として吉武等[9]の方法を参考にしたものである。

Diagram 1 に示した方法により分離した黒色微細末IIは，灰分 7.7 %を含み，定性分析の結果 Fe の存在を確認したが，Cu は検出されなかつた。次に L-チロジンと血液により生ずる黒色素を同様の方法で分離したが，血液と肝臓との接触によつて生ずる色素と極めて類似している。然し肝臓から得た黒色素IIは，N/5 HCl により可溶部と不可溶部に分つことが出来る。

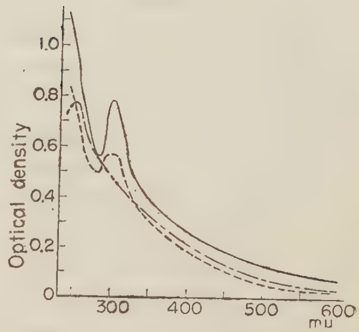


Fig. 1. Absorption curves of black pigment.
——— Black pigment II in diagram I. (Solvent N/10 NaOH)
········· Black pigment produced in the mixture of L-tyrosine and blood. (Solvent N/10 NaOH)
— — — N/5 HCl soluble fraction of black pigment II. (Solvent N/2 HCl)

これに対し，チロジンより生成された色素は N/5 HCl には全く不溶である。この HCl 可溶の黒色素は，酵素作用時間が不足な為に生じた中間体ではないかと考えたので，作用時間を 48 時間とし追試したが，結果は全く同様であつた。

前記分離方法に記載したIIの試料並に N/5 HCl 可溶部と血液チロジンにより生成した黒色素を，ベックマン分光々度計を用い紫外部，可視部に於ける吸光度を測定した結果は，Fig. 1 の如くである。尚IIの試料と血液＋チロジンよりの色素は N/10 NaOH に溶解したもので測定し，HCl 可溶色素は N/5 HCl に溶解したものを用いて測定した。即ち可視部に於ては，肝臓＋血液，チロジン＋血液による両黒色素の吸光曲線には何等顕著な差違はなく，有賀等の示した家蚕幼虫斑紋の色素（メラニン）とほぼ一致した吸光曲線が得られている。之に対し紫外部では，270 mμ 附近に何れの色素もピークを与えるが，これは恐らく混在するチロジンによるものと考えられる。この場合 HCl を溶媒としたものが位置的に若干ズレを生じている。吸光曲線の上からは，之等の色素はチロジンと血液とから生ずるものに一致はするが，血液と肝臓の接触によつて，塩酸に可溶の色素が生成される事実から想像して，他の黒色素の存在も肯定出来る。よつて，次に之等の色素を濾紙クロマト法で分割することを試みた。

ブタノール・酢酸及びフェノール・水等の展開剤では，上記両色素とも原点に止まり分離しなかつたが，1 %炭酸アンモニア水溶液に n-ブタノールを常温に於て飽和せしめた展開剤を使用したところ，チロジン＋血液によつて生成した黒色素は，依然原点より移動しなかつたが，血液，肝臓の組合せによる色素は，原点即ち Rf 0 のメラニンによる外，Rf 値 0.79 に今一つの黒褐色の斑点を与えた。即ち，この方法によつて血液と肝臓から生成される色素には，いわゆるメラニン以外の色素の存在が想像される。然し乍ら，この物質はメラニン生成の中間体であるか，又は全然未知の前駆体から生成される色素であるかに就いては，今後の研究にまつ。

摘　　要

貯蔵中に於けるエビ黒変の原因を探究し，次の事実を明らかにした。

1. エビの黒変は，血液中の酵素が肝臓と接触することにより生成した色素に起因する。
2. 血液と肝臓の接触により生ずる色素の生成には，光線は関与しない。
3. これ等の色素の生成に対する最適水素イオン濃度は，pH 7.0 附近で pH 4.0 では殆んど黒色素の生成は起らない。
4. 上記の色素は，メラニン色素の分離法により分離精製されるが，単一のものでなく，N/5 HCl に可溶及び不溶の少くとも二色素が存在し，この両色素は濾紙クロマト法により分離することが出来る。但し吸光曲線から之等両色素を明瞭に区別することは出来なかつた。

尚終りに，本研究に終始御指導並に論文の御校閲賜つた当学柏田教授，貴重な文献を賜つた東大農学部有賀教授，実験に御意見を賜つた当学今井助教授，ベックマン光度計に御指導を賜つた農学部山本助教授に深謝の意を表す。

文　献

1) 小倉善平・富士川澪： 朝鮮水試, p. 156. 大 14.
2) M. E. Bailey and E. A. Fieger : *Food Technol.*, **8**, 317 (1954).
3) 有賀久雄： 農業及園芸, **27** (4), 5 (1952).
4) 小幡彌太郎・坂村貞雄： 農化, **27**, 766 (1953).
5) 〃 : 〃 〃 769 (1953).
6) 本田幸一郎・小田圭昭： 〃 **29**, 32 (1955).
7) H. Kikawa, Z. Ogita and S. Fujito : *Science*, **14**, 43 (1955).
8) 水野勝義： 生化学, **26**, 438 (1954).
9) 吉武成美・有賀久雄・渡辺兵一郎： 日蚕雑, **20**, 439 (1951).

エビ類の黒変に関する研究—II.
チロジナーゼの分布と黒変との関係

柿本 大壱・金沢 昭夫
（鹿児島大学水産学部）

Studies on the Black Discoloration of Lobster—II. Relation between Tyrosinase and Black Discoloration

Daiichi KAKIMOTO and Akio KANAZAWA

Succeeding to the previous paper, the distribution of tyrosine and tyrosinase in organs of a lobster, *Panulirus japonicus*, was examined to elucidate the relation between the darkening and tyrosinase activity.

1) On the tyrosinase activity, blood was found to be most powerful and in other organs the activity was in the order of stomach, intestines, liver, gonad and muscle (Fig. 1).

2) The content of free tyrosine was higher in liver, gonad and stomach, and no free tyrosine was detected in blood (Table 1).

3) Among several substances known as inhibitor for tyrosinase, *p*-aminobenzoic acid revealed an inhibitory effect on the darkening reaction, as shown in Table 3. Namely, it failed to inhibit the darkening of the mixture of blood and liver, whereas it effectively inhibited the reaction in the combination of blood and L-tyrosine.

第1報[1]に於て著者等はエビの黒変が主として血液に存在する酵素によるものであること，血液と肝臓の接触によって生成された黒色々素を分離試験したところ，その中にチロジン，チロジナーゼによってできるメラニンに類似した色素が含まれていることから，黒変の一因はチロジナーゼの作用にあることを指摘した。チロジナーゼが甲殻類の血液中に存在することについては PINHEY[2] の報告があり，又古く GESSARD[3] はコウイカのインク嚢中のチロジナーゼについて報告している。著者等は前報の研究に引続き，エビの各組織及び器官におけるチロジン及びチロジナーゼの分布，チロジナーゼの活力と黒変との関連性などの問題について実験し，黒色素生成に関する若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

1. 各組織におけるチロジナーゼの分布

チロジナーゼの作用力測定法　チロジナーゼの作用によって生ずるメラニンの化学的性質が充分明らかでないため，チロジナーゼの測定法には不確実な点があるようであるが，CHODAT[4] その他はチロジンにチロジナーゼを作用せしめた場合における生成メラニン或は残存するチロジンを比色法によって測定する方法を採用しており，BACH はメラニンを過マンガン酸カリで酸化する滴定法を用いている。又，RAPER[5] は WARBURG respirometer によりチロジン酸化の際の酸素吸収量を測定する方法を考案している。著者等の研究は黒色素の生成を問題とするものであるから，生成した黒色の程度を光電比色計による吸光度で測定し，その値でチロジナーゼの活性度を比較する方法によって実験した。

試料の調製　イセエビを用い，第1報で述べた様に各組織，器官に分割し，血液は 6 cc に 0.85 % 食塩水 10 cc を加えたもの，筋肉，肝臓，生殖腺，胃，腸は各 6 g にクロロホルム飽和水 10 cc を加えて磨砕した後遠心分離にかけ，その上澄液を試験用粗酵素液とした。

1956 年 3 月 20 日受理

測 定 法　上記の粗酵素液 1 cc を L-チロジン溶液（L-チロジンの結晶 25 mg をマキルベン緩衝液(pH 7.2) 32 cc に溶解したもの）に加え，トルオールを添加して 37°C に放置し，4, 8, 12, 24 時間後にその 8cc をとり 10 分間煮沸して酵素作用を止めた後，東洋濾紙 No. 5C で濾過して得た溶液を 43, 50, 57, 66 の各フィルターを用いて光電比色計により吸光度を測定し，別に前記各抽出液にチロジンを添加しない粗酵素液のみを反応させ盲検値とし差引き，チロジナーゼの活性度にした。このように数種のフィルターを使用して測定したのは，用いた試料が粗酵素であるため反応後における試験液の着色がいわゆるメラニン生成にのみよるか否か疑問があったからである。

実験結果　前記のように色々のフィルターを使って測定したが，フィルターのちがいによる測定値の相互関係は全く等しく，又測定結果は第1報の実験で得られたメラニンのそれともよく一致している。いづれのフィルターによる測定値によっても比較し得るわけであるが，Fig. 1に見られるようにチロジナーゼの活性度は血液が最高を示し，胃，腸，肝臓，生殖腺，筋肉の順に低下することが認められる。

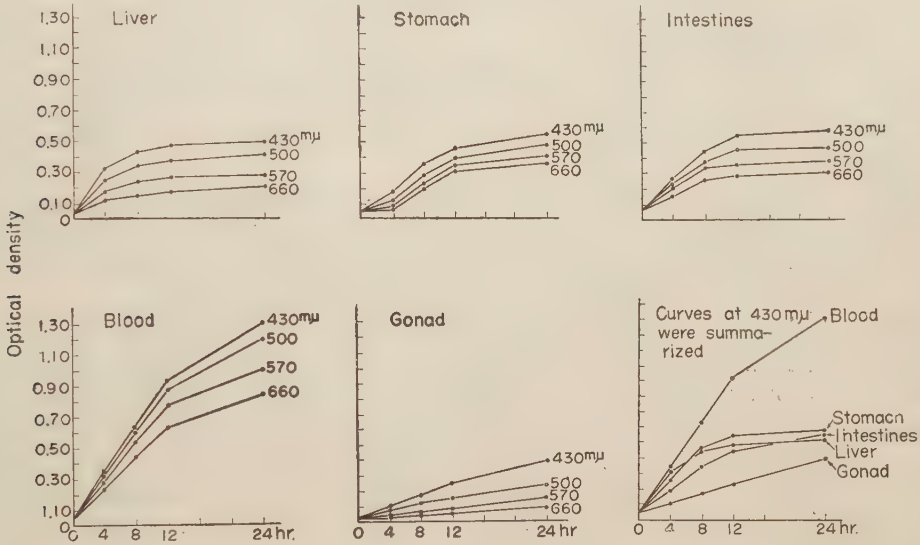


Fig. 1. Tyrosinase activity of various organs.
Activity was represented by the increase in optical density of the reaction mixture.

2. 各組織，器官のチロジン含量

メラニン色素は主としてチロジナーゼが遊離チロジンに作用して生成されるものであるから，次に各組織器官に於ける遊離チロジンを定量した。定量は *Lactobacillus arabinosus* を用いる bioassay 法によって行った。Table 1 は三塩化酢酸で除蛋白した各組織，器官における遊離チロジンの定量値であるが，参考のため 20 % 塩酸で約 20 時間煮沸，加水分解した試料について定量した全チロジン量も併記した。表にみられるように肝臓，生殖腺，胃における遊離チロジン量は他の部分より多く，且つその値に大差がなく，腸，

Table 1. Tyrosine content of the organs in *Panulirus japonicus*

Organs	Free tyrosine mg./g.	Total tyrosine mg./g.	$\frac{\text{Free tyrosine}}{\text{Total tyrosine}}\times 100$
Liver	0.5	1.2	41.6
Gonad	0.6	2.5	24.0
Intestines	0.3	2.4	12.5
Blood	0.0	5.5	0.0
Muscle	0.2	4.0	5.0
Stomach	0.5	1.6	31.2

筋肉の順で筋肉には少いが，興味のあることは血液中に全く遊離チロジンの存在しないことである。而も全チロジン量は血液に最も多く，肝臓には最も少い。又全チロジンに対する遊離チロジンの割合は，血液，筋肉は夫々0％及び5％で最も少く，肝臓は41.6％で最高値を示している。以上の実験結果から血液のみを放置した場合黒変が起らないのは，血液はチロジナーゼ活力が強いに拘らず，遊離チロジンが存在しないためメラニンが生成されないということで説明がつくし，血液と肝臓との接触によって黒変を生ずるのは血液中のチロジナーゼと肝臓中の遊離チロジンによってメラニンの生成を見ることにその一因があると考えることができる。併し遊離チロジンが肝臓に劣らず多く含まれている生殖腺，胃などに血液を加えた場合，黒変を見ないのは何故であろうか。たゞチロジン．チロジナーゼだけでは説明がつかない。肝臓の中にチロジナーゼの作用を特異的に促進するような物質が存在するのか，肝臓以外の器官にチロジナーゼに対し抑制的作用をする物質が存在するためであるか，それとも何れの組織，器官に於てもいわゆるメニラン の生成は認識し得ないほど少く，肝臓に於てのみメラニン及びメラニン以外の色素の生成が特に著しいのであるか，その原因を究明するためには今後更に実験を重ねて行かなければならない。

3. 黒変に対する抑制剤の作用

チロジナーゼ作用に対する抑制剤はこれまでの研究によって既にいくつかの物質が知られているが，これらの物質がエビの黒変に対しどのような効果を示すかは，黒変が主としてチロジナーゼの作用によるものかそれともチロジナーゼ以外の酵素的作用若しくは化学変化も関与しているかを探る一つの方法となるので，この実験を行った。

実験方法　前述の方法で調製したイセエビの粗酵素液をチロジン溶液及び肝臓粥に加え，これにシステイン，硫化水素，塩化第二水銀，アニリン，ビタミンC及びパラアミノ安息香酸の 10^{-3} M 濃度の溶液1ccを添加し，37°Cに24時間放置した場合における黒変の出現を肉眼で観察した。この場合基質として用いた肝臓粥はその全チロジンが今一つの基質チロジンのものとほゞ等量になる量を用いた。

実験結果　結果は Table 2 の通りで，抑制剤として添加したもののうち前五者は基質としてチロジンを用いたものと肝臓粥を用いた両者に対し全く同じ効果を示し，即ちシスティンを除く四者は完全に抑制的作用を表わした。パラアミノ安息香酸はチロジンを基質としたものには抑制剤として仂き黒変を抑えたが，肝臓粥を基質とした場合にはその作用がなく，顕著な黒変を出現した。以上の実験結果は第1報で指摘したように，エビの黒変はチロジン，チロジナーゼによって生ずる黒色素，いわゆるメラニン以外に未知黒色素の生成によることを暗示するものであるが，一方肝臓中に抑制剤としてのパラアミノ安息香酸を不活性化せしめるような物質或は作用のあることも考えなければならないので，これらの点についてもその解明は将来に残された問題である。

Table 2. Influence of inhibitors on the darkening

Inhibitors	Black discoloration	
	Liver+Blood	L-Tyrosine+Blood
Cysteine	+	+
H_2S	−	−
Mercuric chloride	−	−
Aniline	−	−
Ascorbic acid	−	−
p-Aminobenzoic acid	+	−

+……Darkening.
−……No darkening.

摘　　　要

1.　イセエビの各組織，器官におけるチロジナーゼの活性度を比較したところ血液が最高で，胃，腸，肝臓，生殖腺，筋肉の順に低下した。

2.　各部に於ける遊離チロジン含量は肝臓が生殖線，胃と共に最も多く，血液には含まれていない。

3. チロジナーゼに対する抑制剤として知られている数種の物質につき，これらがエビの黒変に如何なる効果を示すかを試験した結果，パラアミノ安息香酸は特異的作用を有し，チロジンを基質とした場合の黒変はこの物質によつて防止されたが，肝臓を基質とした場合には抑制的効果を示さなかつた。このことはエビの黒変がいわゆるメラニン以外の黒色素の生成によるのではないかとの暗示を与える。

尚終りに，この研究に終始御指導並に論文の御校閲を賜つた当教室の柏田研一博士，実験に協力を御願いした亀井伸一郎君に深謝の意を表わす次第である。

文　　献

1） 柿本大壱，金沢昭夫： 本誌，**22**，471 (1956).

2） Pinhey，K.G.，： *J. Exptl. Biol.*，**7**，19 (1930).

3） Gessard，C.，： *Compt. rend. soc. biol.*，**54**，1304 (1902).

4） Chodat，R.，： Abderhalden，"Handbuch der biol. Arbeitsmethoden，" Abt. 3，Teil 1，P. 42.

5） Raper，H.S.，： *Physiol. Revs.*，**8**，244 (1928).

イカ肉の特臭に関する研究—II.
煮熟臭の発生部分及び発臭抑制について

山西　貞・山下幸子・山崎明子・徳江洋子
（お茶の水女子大学食品化学教室）

Studies on the Characteristic Odour of Squid—II.
On the Mother Substance and Supress of the Characteristic Boiled Squid-odour

Tei YAMANISHI, Sachiko YAMASHITA, Akiko YAMAZAKI, and Yoko TOKUE

The characteristic odorous substance (sulfur containing amine with piperidine nucleous) was formed when water extract of squid meat was boiled, but it was not formed from skin nor non-protein extract of the meat. From non-protein extract only trimethylamine and ammonia were produced.

When chopped squid meat was treated with each of acid, alkali, hydrogenperoxide, ferulic acid and vanillal acetone before boiling, the characteristic odour was weakened or not produced.

If chopped squid meat was stored at −24～25°C for about half a year, the characteristic odour was produced only slightly when it was boiled. Perhaps a certain denaturation occurred and, as a result development of the characteristic odour was supressed.

It was considered that the mother substance of characteristic odour of boiled squid meat was principally water soluble protein or low molecular substance which strongly adsorbed in the protein.

緒　　言

イカを煮熟すると，イカ特有の臭を発生するが，この臭成分として，アンモニア，トリメチルアミンの外にイカ臭を特徴づける物質と考えられる一種の含硫アミンの存在を認め，前報[1]に報告した。この煮熟臭はイカ肉の加工の場合問題となるものであるが，之を解決する方法に二通り考えられる。一つは加熱前に或種の処理をし，発臭を防ぐ法で，他の一つは加熱発臭した後，之を脱臭する方法である。実際の場合，前者の方が望ましいと考えられる。依つて著者等は先づ煮熟特臭がどの部分から発生するか，発臭の母体は何かと云うことゝ，どの様な物質によって発臭が抑制され又は防止されるかにつき研究した。

実　験　の　部

I）発臭部分の検索

A）皮及び肉から発生する臭

足部は完全な剝皮が困難なため，試料は胴部のみを用いた。生鮮スルメイカの胴部につき，色素を含む外皮（1，2層）を剝ぎ，次でその下にある無色透明の内皮（3，4層）を可及的完全に剝ぎとる。かくして外皮 85 g 内皮 35 g 及び肉 800 g を得た。

各部を細断後水蒸気蒸溜し，各々重量の2倍量の溜液を採取した。

外皮及び内皮の蒸溜液に共にイカ特有の煮熟臭は殆ど感じられず，極めて弱い一種の生ぐさいアミン臭が認められたのみである。

肉からはイカ特有の甘味を帯びた煮熟臭の強い蒸溜液が得られた。之を塩酸酸性にし，減圧濃縮後 50°C の通風乾燥器で乾燥し，約 500 mg の混合アミン塩酸塩を得た。この塩酸塩はナトリウム熔融するとスルメ

1956 年3月 28 日受理

焙焦臭を発し，この熔融物より硫黄が顕著に検出され（ニトロプルシッドソーダ法及び酷酸鉛法による），第1報記載の特臭成分塩酸塩と全く同じ性質を示した。

以上の結果からイカ煮熟特臭は皮からでなく，肉のみから生ずることが明らかとなつた。

B）非蛋白部より生ずる臭

細断イカ肉（皮付）に適量の蒸溜水を加えよく攪拌し糊状にしたものを次の4種の方法により除蛋白した液（何れもビユーレット反応陰性）につき加熱，発臭の状態を検討した。

1）試料の調製

a）タンニン酸溶液による法――試料（a）の調製

細断イカ肉 300 g に蒸溜水 600 cc 加え，よく攪拌，糊状液とし，之に3％酢酸に1％タンニン酸を溶かした溶液 600 cc を加えて攪拌放置後，沈澱した蛋白質を濾去し，淡紅色透明溶液を得た。

b）硫酸銅による法――試料（b）の調製

細断イカ肉 300 g に水 300 cc を加えてよく攪拌，糊状液とし，塩酸で微酸性にした後，10％ 硫酸銅水溶液 900 cc を攪拌しつつ加え，漸時放置後，生じた沈澱物を濾去す。濾液は微かに白濁している。

c）昇汞による法――試料（c）の調製

細断イカ肉 300 g に昇汞飽和水溶液 1200 cc 加え，塩酸で微酸性とし攪拌放置し，生じた沈澱を濾去す。濾液は無色透明である。

d）透析による法――試料（d）の調製

細断イカ肉 300 g をセロファン袋に入れ，蒸溜水 1200 cc を入れたビーカー中に吊し，時々振り動かしつつ 10～11°C に於て 20 時間透析す。透析によつて得られたビーカー中の液は僅かに着色した透明な液である。

以上の如く調製した試料（a），（b），（c），（d）につき，加熱発臭させる前に，先づ此等に含まれるアミノ酸を明かにすることは臭の発生原因を考察するために必要であるので濾紙クロマト法によりアミノ酸の検出を行つた。（a），（b），（c），（d）各液100 cc をとり，減圧濃縮し約5 cc とし，試料とした。発色剤は0.25 ％ニンヒドリン水飽和ブタノール溶液の外，各アミノ酸に対する特殊試薬[2]を併用しアミノ酸の種類を決定した。結果は Table 1 の如くで，多数のアミノ酸が認められた。又，（a），（b），（c），（d）を加熱発臭させた後，この各液 100 cc につき全く，同様に濾紙クロマト法で検討したが，加熱前の原液との間に明らかな差は認められなかつた。

2）煮熟臭の発生試験

試料（a），（b），（c），（d）の各液を水蒸気蒸溜し，煮熟臭を採取した。比較のため同時に生鮮スルメイカ肉を細断しその水蒸気蒸溜液を調製した。之等5種の蒸溜液の臭を検べた後，塩酸酸性となし，減圧濃縮し，塩基性物質の塩酸塩を得た。この塩酸塩につき濾紙クロマト法を行い，且，この塩酸塩溶液をアルカリで分解したものについても濾紙クロマト法で検討した。又塩酸塩中の硫黄の有無について，常法により定性分析を行つた。此等の結果を Table 2 に一括表示した。

Table 1，Table 2 より，リヂン始め多種のアミノ酸が存在しても非蛋白部だけでは主としてアンモニア及びトリメチルアミンを生ずるのみで煮熟イカ特臭の含硫アミンは生じないことが判つた。濾紙クロマト法による試験では Rf 0.30 のスポットがこの含硫アミンに相当すると考えられ，之はアルカリにより分解されて新たに生じた Rf 0.35，0.50 及び 0.75 のスポットに相当する物質を生ずるものとみなされる。

C）冷水可溶部より生ずる臭

除蛋白液からは上述の如く，イカ煮熟特臭が発生しないことが認められたので，次に冷水可溶部について発臭の状態をしらべた。

生鮮スルメイカ 1.5 kg を細断し，之に 1.5 l の蒸溜水を加え，2時間攪拌抽出後，遠心分離機にかけ，上層の半透明溶液を分取する。この溶液の濾過は極めて困難で，且濾過液も濾過前と外観が殆どちがわないので上層溶液をそのまゝ試料とした。この試料に更に 1.5 l の蒸溜水を加えよく攪拌後切半し，一半をそのまゝ加熱するとイカ煮熟特臭を発し，同時に溶解していた蛋白は熱凝固する。之を濾去するとイカ煮熟特臭を有する透明な液が得られた。他の一半は塩酸酸性とし，モリブデン酸ソーダで除蛋白した。この溶液を

Table 1. Detection of amino acids in non-protein extract of squid meat by paper chromatography

Standard		Sample			
Amino acid	Rf value	(a)	(b)	(c)	(d)
Lysine	0.10	+	+	+	+
Histidine	0.10	+	±	±	±
Arginine	0.12	+	— (*)	+	±
Glutamic acid	0.15	±	— (*)	±	±
Serine	0.15	±	— (*)	+	±
Taurine	0.18	+	— (*)	+	+
Threonine	0.24	+	— (*)	+	+
Glutamine	0.27	+	+	+	+
Alanine	0.29	+	+	+	+
Proline	0.39	+	+	+	+
Tyrosine	0.49	+	+	+	+
Valine	0.53	+	+	+	+
Methionine	0.55	—	—	—	±
Tryptophan	0.58	±	±	±	±
Isoleucine	0.66	±	±	±	±
Phenylalanine	0.70	±	+	+	+
Leucine	0.72	+	+	+	+

Method ; One dimentional and multiple ascending method.
Solvent ; n-BuOH : H_2O : AcOH (50 : 50 : 6) upper layer.
Temperature ; 10±1°C.
Time of development ; 20 hrs. +19 hrs.
Color reagents ; 0.25 % water saturated n-BuOH solution of ninhydrin, and special reagents[2] for lysine, hystidine, serine, threonine, methionine, and tryptophan.
Note ; (1) mark + denotes remarkable spot (2) (*) disturbed by Cu^{++}
± denotes doubtful spot
— denotes no spot

Table 2. Nature of odorous substances obtained from non-protein extract of squid meat by steam distillation

Sample	Odour of steam distillate	Presence of sulfur in the hydrochloride	Spots of amines on the paper chromatogram of	
			hydrochloride	decomposed hydrochloride by NaOH
			(Rf value)	(Rf value)
(a)	Just like odour of soy made of mixed amino acid solution	—	0.03 0.12 0.19	0.03 0.12 0.20
(b)	Odour of ammonia and weak odour of boiled squid meat	±	0.02 0.12 0.19	0.02 0.12 0.20
(c)	Non odour	—	non spot	non spot
(d)	Weak odour of boiled squid meat and ammonia	+	0.12 0.19	0.13 0.20
Chopped squid meat	Characteristic odour of boiled squid meat	++	0.03 0.12 0.20 0.30	0.04 0.50 0.12 (0.60 ?) 0.20 0.75 0.35

Note. Condition of paper chromatography was as follows.
Solvent ; n-BuOH : H_2O : AcOH (50 : 50 : 6)
Method ; One dimentional ascending method.
Temperature ; 5～10°C
Time of development ; 20 hrs.
Rf value of ammonia, trimethylamime and piperidine are 0.13, 0.20, and 0.38 in this order.

注意深く中和した後，加熱すると，イカ煮熟特臭は極めて弱く，アミノ酸醤油の煮沸臭に近かつた。この2種の発臭液をそれぞれ塩酸で再び酸性とし，減圧濃縮し，濾紙クロマト法で比較検討した。Table 2に示す実験と全く同じ条件で行いニンヒドリンで発色させた所，次の如く両者殆ど同様のスポットの配列を示し，又発色状態も同じ様で両者の臭の差をクロマトグラムで説明し得なかつた。

(Rf 値)

スポット	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
水抽出液	0.05	0.09	0.13	0.21	0.25	0.32	0.37	0.45	0.63	0.69
除蛋白液	0.06	0.09	0.12	0.18	0.25	0.28	0.36	0.45	0.62	0.68

然し，スポット④と⑥の Rf 値は両試斯の間に若干ひらきがあるがこれと臭との関係については明かにし得なかつた。只水抽出液のスポット⑥は Table 2 の実験に於ける特臭物質の Rf 値に近似である。

以上の結果を総合しイカ煮熟特臭は，冷水可溶の蛋白質或はこの蛋白質に吸着されている低分子の物質の何れかより生ずるものとみなされる。この点については更に精査中である。

II） 発臭抑制作用に関する実験

A）冷凍による発臭抑制

ピアノ線で細断したイカ肉（北大谷川研究室調製の squid pulp）を−24～25°C に約半年間貯蔵したものを水蒸気蒸溜した場合，得られた蒸溜液の臭は所謂煮熟イカ特臭が弱く，アンモニア及びトリメチルアミン臭が強い。又この溜液をエーテル抽出し，エーテルを溜去し得られた臭物質の濃厚溶液は，生鮮イカの場合海産魚の油焼臭と共に甘い煮熟特臭が強いのに対し，この冷凍細断肉から得られたものは鰹節のだしがら様の臭であつた。この蒸溜液から得られた塩酸塩につき，Table 2 に示した実験と同じ実験を行つた。結果は Table 3 に示す通りである。

Table 3. Comparison of odorous substances of frozen squid pulp with that of fresh chopped squid meat

Sample	Prsence of sulfur in the hydrochloride	Spots of amines on the paper chromatogram of hydrochloride	Spots of amines on the paper chromatogram of decomposed hydrochloride by NaOH
		(Rf value)	(Rf value)
Frozen squid pulp	−	0.06, 0.14, 0.22, 0.36	0.03, 0.11, 0.20
Fresh squid meat	+	0.05, 0.13, 0.22, 0.31	0.03, 0.12, 0.20, 0.35 0.50, (0.60 ?) 0.75

Note ; Condition of paper chromatography was same as Table 2.

Table 3 に示す如く，冷凍し，長期冷蔵した細断イカ肉は加熱しても煮熟イカ特臭成分と考えられる Rf 0.30 に相当する物質が発現しない。

なお冷凍，冷蔵温度及び冷蔵時間と発臭状態との関係については更に研究中であるが，冷凍によつて変性が起り，特臭物質の生成が困難になるものと考えられる。

B） 化学処理による発臭抑制

a） 酸処理

細断イカ肉の糊状にしたもの 750 g に 2 n-HCl をpH 3になるまでよく混和しつゝ加える。之を水蒸気蒸溜すると，塩基性物質は抑えられ，イカ肝油様の悪臭が得られる。この溜液中の脂肪酸につき，濾紙クロマト法で処理検討した所，醋酸の他に未確定の4種のスポットが得られた。

蒸溜残渣肉は鰹節のダシカラ様であつた。

b） アルカリ処理

細断イカ肉に 1％ 重曹を等量加えよく混和した後，加熱すると硫化水素，アンモニア及びピペリヂン臭が強く感じられ特臭は殆ど感じられない。

c）酸処理後アルカリ処理

細断イカ肉に3％醋酸を肉量の約 1/5 加えよく混和した後加熱し（この時硫化水素の発生が鉛糖紙により認められる），後 1％ KOH で中和し，乾燥すると，魚粉のふりかけと全く同じ臭となりイカ煮熟特臭は全くしない。

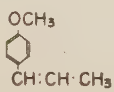
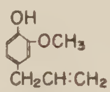
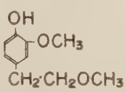
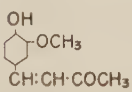
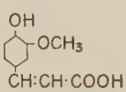
d) 過酸化水素処理

細断イカ肉 750 g に5％過酸化水素水 250 cc 加えよく擂潰混和後，水蒸気蒸溜すると煮熟特臭は著しく弱くなり，鰹節のダシガラ様の臭に近い。故に特臭成分の母体或は特臭成分自体が過酸化水素により酸化変化を受けたものと考えられる。ピペリヂンが過酸化水素により分解することは既に著者の1人が認めた[3]所である。

e) 香辛料成分その他不飽和化合物の添加

Table 4 に示す如き諸物質を合成し，表中に示す量をそれぞれエタノール 10 cc に溶解し，之を細断イカ肉 100 g に添加，よく攪拌混和した後，2時間放置後，水蒸気蒸溜し，約 50 cc の溜液をとり，溜液及び残渣の臭をしらべた。結果は Table 4 の如くであつた。

Table 4. Deodorization-test by adding essential substances of spices and other synthetic unsaturated compounds

Added substance	Chemical structure	Amount of adding to 100 g of squid meat	Intensity of the characteristic odour of boiled squid (distillate)	(Residue)
(*) Allylpropyl-disulfide	$CH_3{\cdot}CH_2{\cdot}CH_2$—S / $CH_2{:}CH{\cdot}CH_2$—S	10 mg	−	±
(*) Anethole (commercial)		15	±	+
(*) Eugenol (commercial)		15	±	±
Zingeron		100	+	++
Vanillal-acetone		100	+	+
Ferulic acid		100	+	+
Blank		——	+++	+++

Note: These three substances remarked with(*) have a strong aroma of its-self.

Table 4 より，不飽和基のあるものは大体に於て発臭抑制或は脱臭効果があるとみなされるが，allylpropyl disulfide, anethole 及び eugenol はそれ自体の匂が強いのでイカ特臭を蔽つて感じられなくしているとも考えられる。

総　　括

イカを煮熟する時に発生する特臭がどの部分から生じるかをしらべ，発臭を抑制或は脱臭する物質について検討し，次の如き結果を得た。

1) イカ肉の煮熟特臭は皮からは発生しない。又非蛋白部のみからも生成されない。

非蛋白部を加熱すると主としてアンモニア及びトリチルアミンを生ずるだけである。

2） イカ肉の冷水可溶部を加熱すると煮熟特臭を発生する。

3） 細断イカ肉を長期低温（—24～25°C）に保存すると，特臭を出し難くなる。

4） 細断イカ肉を予め酸，アルカリ，過酸化水素水等で処理すると臭質は著しく変り，所謂特臭は認められない。又 ferulic acid，vanillal acetone 等の不飽和化合物を添加すると臭は弱まる。Anethole，eugenol，allylpropyl disulfide も有効とみなされるが，此等自身の匂が強く，脱臭と賦香とが同時に行われるものと考えられる。

終りに臨み有益な御教示を頂いた東海区水産研究所右田正男博士，北大教授小幡弥太郎博士，更に研究試料を頂いた北大教授谷川英一博士に深甚の謝意を表する。

又，研究費の一部は農林省水産庁の応用研究費によったことを附記し，併せて感謝する。

文　　献

1） 山西貞，松坂任子：本誌 **20**，850～852（1955）.

2） 大須賀照夫：化学の領域 **8** No. 3（1954）.

3） 山西貞：小幡弥太郎，本誌 **18**，10（1952）.

イカ肉の特臭に関する研究—Ⅲ. 雨イカの悪臭成分について

山西 貞・三浦 和子
(お茶の水女子大学食品化学教室)

Studies on the Characteristic Odour of Squid—Ⅲ. On the Unpleasant Odorous Substance of Rain Spoilt Dried-Squid

Tei YAMANISHI and Kazuko MIURA

Rain spoilt dried-squid is a product of low quality produced when squid meat is exposed to rain during drying process, and has an offensive odour.

The unpleasant odorous substances were extracted from rain spoilt dried-squid with 70% ethanol. They were separated into acidic and basic parts.

From the acidic part, a substance with strongly offensive odour characteristic to rain spoilt dried-squid, a kind of unsaturated fatty acid, was obtained. Formic, acetic, and *i*-butyric acid were also found by paper chromatography.

From the basic part, ammonia, trimethylamine, piperidine, indole, and two unknown amines were recognized by paper chromatography.

緒 言

するめ製造の際，雨天の為漁獲後直ちに乾燥出来ぬ場合，所謂「雨イカ」と称する肉質の赤い特有の悪臭をもつ下等するめが出来る。雨イカとなるするめは毎年莫大な量であるが，この雨イカの更生の手段として第一に考えられるのは悪臭の除去である。依つて著者等は悪臭除去のために先ず必要な基礎研究として，悪臭を構成している物質について検索した。

実 験 の 部

Ⅰ. 悪臭成分の分離

雨イカ 500g を 70% エタノール 2l に2日浸漬し，軟くなつてからチョッパーで細断し，再びこのエタノールに3日間浸漬後，エタノール抽出液を分取する。抽出残渣は全く悪臭を持たない。かくして悪臭成分のエタノール抽出液約 1.5l を得た。之を Fig. 1 に示す如く処理した。

Ⅱ. 酸性部の検索

1) 濾紙クロマト法による検索

Fig. 1 に示す酸性部試料 A_1 及び A_2 につき，一次元上昇法による脂肪酸の濾紙クロマト法を行つた。試料は遊離酸のまゝと，ヒドラヂット及びヒドロオキザム酸にしたものとにつき行つた。

遊離酸： Fig. 1 中の試料 A_1 をそのまゝ点滴試料とす。

ヒドラヂット法： 試料 A_2 に無水エタノール 20cc を加え，濃硫酸で pH 1 とし更に濃硫酸 3cc を加え，5時間還流加熱しエステル化する。之に無水芒硝を少量加え，一夜放置し芒硝を濾去した後，hydrazine hydrate を過剰に加え，100～130°C の油浴中で8時間加熱する。得られた粘性溶液から過剰の hydrazine を蒸発により除き，粘性の黒褐色液を得る。之を点滴試料とす。

ヒドロオキザム酸法： 試料 A_1 をチオニルクロライドで常法により酸クロライドとし，之にヒドロキシルアミン塩酸塩のエタノール飽和溶液を適量加え，苛性ソーダのエタノール溶液で中性乃至微アルカリ性にした後，60°C に 5～10 分間加熱し，hydroxamate の溶液を得る。之を点滴試料とす。

1956 年 9 月 1 日受理

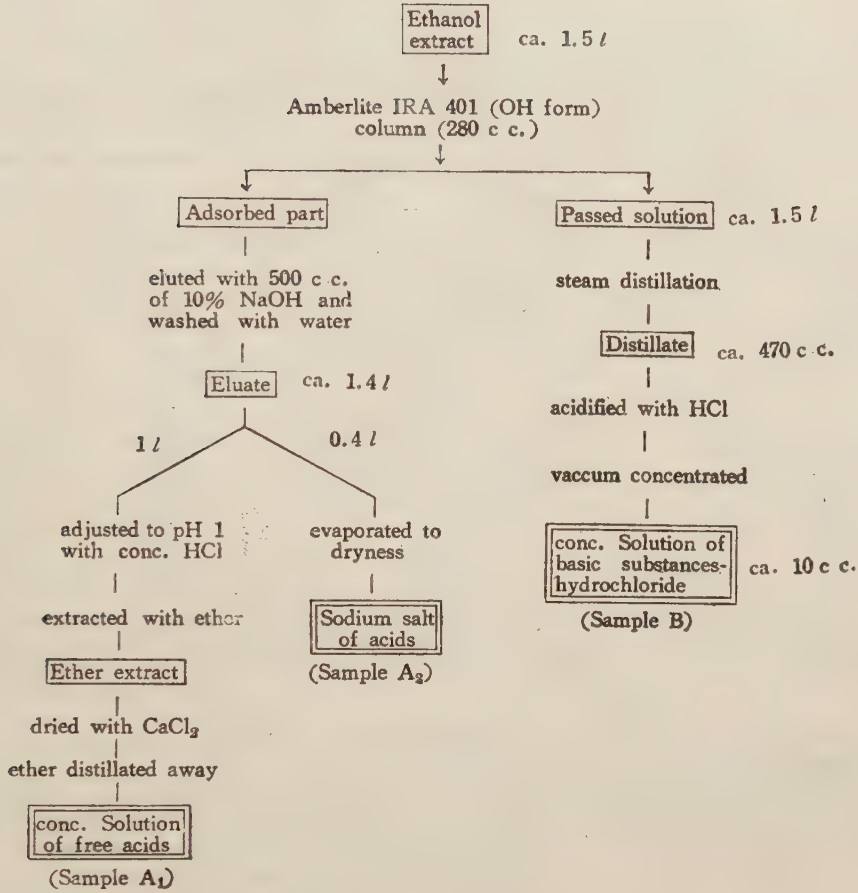


Fig. 1. Separation of odorous substances into acidic part and basic part.

此等三種の試料につき濾紙クロマト法を行った結果を Table 1 に示す。

Table 1 に示す如く，蟻酸及びカプロン酸に相当するスポットは常に鮮かに出た。酢酸はやゝうすく，イソ酪酸に相当するスポットは不鮮明ではあるが常に現れた。

然しカプロン酸に相当するスポットは次に述べる如く，主として雨イカ特有の悪臭酸によるものと考えられ，果してカプロン酸が存在するかどうか明かでない。

2) 悪臭酸の分離及び定性

Fig. 1 に示す試料 A_1 をデシケーター中に放置すると蠟状無定型の固体が析出した。之を陶土板上にとり，附着している液状部を可及的に除き，白色蠟状物を得た。この物質は強烈な酸性悪臭を有し，雨イカの悪臭の主体をなす臭である。この物質につき次の如く諸性質をしらべた。

i) mp. 58～60°C, 150°C 附近で消失する。（ミクロ融点測定装置で観察）

ii) エーテル及びアルコールに易溶，水に難溶。

iii) 臭素溶液を脱色する。故に不飽和基を有すると考えられる。

iv) Table 1 に示す遊離酸の濾紙クロマト法をこの物質について行うと Rf 0.84 であつた。同時に行つたカプロン酸の Rf は 0.85 であつた。

v) iv) に於て，この悪臭物質のスポットに 5% 炭酸ソーダ水溶液を噴霧すると酸性悪臭は完全に消失する。

Table 1. Detection of acids by paper chromatography

Sample	A_1 (Free acids)		Hydrazide derived from A_2(*)				Hydroxamate derived from A_1			
Color reagent	Iodine vapour (brown spot)		Ammoniacal $AgNO_3$, heated at 90°C, 5～10 min. (black spot)				10% n-BuOH solution of $FeCl_3$ (purple or brownish purple spot)			
Solvent	n-BuOH:AcOH:H_2O (4:1:5)		Rutidine:i-AmOH:H_2O (3:20:2)		(2:10:1)		n-BuOH:AcOH:H_2O (4:1:5)			
Temperature and time of development	10°C, 20 hrs.		20°C, 24 hrs.		20°C, 24 hrs.		17°C, 18 hrs.		10°C, 20 hrs.	
Rf Value and color intensity of spot	Rf	color intensity	Rf	color intensity	Rf	color intensity	Rf	color intensity	Rf	color intensity
	0.37	+	0.09	++	0.07	++	0.44	++	0.41	++
	0.49	±	0.19	+	0.17	+	0.54	±	0.52	+
	0.70	+	0.65	±	0.64	±	0.78	±	0.75	±
	0.84	+					0.86	++	0.81	++
Rf value of standard acids: Formic	0.38		0.09		0.07		0.44		0.42	
Acetic	0.49		0.21		0.21		0.54		0.53	
Propionic	—		0.42		0.38		0.70		0.55	
i-Butyric	0.70		0.60		0.60		0.76		0.75	
n-Butyric	—		—		—		0.80		0.78	
i-Valeric	—		—		—		0.82		0.80	
Caproic	0.85		—		—		0.86		0.82	
Caprylic	—		—		—		0.94		0.87	

Note : (*) By this method, acids more than five carbon atoms can not be detected clearly.

vi） Anilide を調製すると美しい青緑色を有する針状結晶を生じた。mp 220°C（ミクロ融点測定装置による）。

なおこの悪臭酸については更に精査の上追つて詳細を報告する予定である。

Ⅲ. 塩基性物質の検索

Fig. 1 に示す Amberlite IRA 401 通過液は，アミン臭が強い。之より得た試料 B につき濾紙クロマト法により塩基性物質の検索を行つた。比較のため上質するめにつき全く同様にして塩基性物質の塩酸塩を調

Table 2. Detection of volatile basic substances by paper chromatography

Sample		Rf (1)	Rf (2)	value and color of spot	Corresponding substance
Rain spoilt dried-squid		0.03	0.04	(light violet) very small spot	?
		0.16	0.17	(reddish purple)	Ammonia
		0.24	0.22, 0.28	?(reddish purple)	Trimethylamine
		0.40	0.41	(bluish purple)	Piperidine
		0.49	0.51	(dark reddish violet) very big spot	?
		0.63	0.64	(dark reddish violet) very big spot	
Dried squid of high quality			0.05	(light violet)	?
		0.16	0.17	(reddish purple)	Ammonia
		0.24	0.24	(reddish purple)	Trimethylamine
Standard basic substance	NH_4Cl	0.16	0.17	(reddish and brownish purple)	
	$(CH_3)_3N \cdot HCl$	0.24	0.23	(reddish purple)	
	$C_5H_{11}N \cdot HCl$	0.40	0.40	(pure purple)	

Method : One dimentional ascending method.
Solvent : n-BuOH:AcOH:H_2O (50:6:50)
Temperature : 12～15°C.
Time of development : 20 hrs.
Color reagent : 0.25% water saturated n-BuOH solution of ninhydrin.

製し同時に濾紙クロマト法を行つた。結果は Table 2 の通りである。

Table 2 に示す如く，雨イカには上質するめに認められない Rf 0.40, 0.49, 0.63 の3ケのスポットが現れる。0.40 のスポットはピペリヂンと思われる。0.49 及び 0.63 のスポットは共に非常に大きく鮮明なスポットである。これについては如何なる塩基物質か未だ不明であるが，後に精査することにする。

なお塩基性悪臭成分として，インドール及びスカトールの存在が推定されるので，之について検討した。即ち，雨イカ及び上質するめの 70% エタノール抽出液を直接濾紙クロマト法の試料とし検討した。結果は Table 3 の如くであつた。

Table 3. Detection of indole and skatole by paper chromatography

Sample		Rf value and color of spot	Corresponding substance
Rain spoilt dried-squid		0.86 (pink) 0.45 (purple) 0.41 (yellow) 0.16 (yellow)	Indole Tryptophan ? ?
Dried-squid of high quality		0.87 (pink) 0.44 (purple) very big spot 0.15 (yellow)	Indole Tryptophan ?
Standard substance	Indole	0.88 (pink)	
	Skatole	0.89 (bluish purple)	
	Tryptophan	0.44 (purple)	

Method : One dimentional ascending method.
Solvent : n-BuOH:AcOH:H_2O (4:1:1).
Temperature : 13°C.
Time of development : 17 hrs.
Color reagent : Ehrlich's reagent.

Table 3 より インドールは雨イカにも上質するめにも共に認められたが，スカトールは何れにも認められなかつた。トリプトファンのスポットが上質するめに於ては特に大きく著明に出るのに対し，雨イカでは極く小さく淡くしか出ない。このことから雨イカでは，トリプトファンが流れ去つたか或はインドールに多量変つたものかの何れかと考えられる。

総　　括

雨イカの悪臭成分を 70 % エタノールで抽出し，イオン交換樹脂 Amberlite IRA 401 で酸性部と塩基性部に分け，各部につき主として濾紙クロマト法により各成分を検索した。

（1） 酸性部から蟻酸，醋酸，イソ酪酸及びカプロン酸に相当するスポットが得られた。この中カプロン酸に相当する Rf 値のスポットは，雨イカ特臭の主成分と考えられる一種の不飽和酸と Rf 値が近似であるので，果してカプロン酸が存在するかどうか確定出来ない。

（2） 上記の一種の不飽和酸を蠟状物質として分離した。このものは mp. 58～60°C, Anilide mp. 220°C (何れもミクロ融点測定装置による）なること，且つこの臭は極めて強烈で不快な酸性臭であり，雨イカの悪臭の主因をなしている臭であることを認めた。又この悪臭は 5% の炭酸ソーダ溶液で全く消失する。

（3） 揮発性塩基性物質としてアンモニア，トリメチルアミン，ピペリヂン及び不明のアミン2種の存在を認めた。此の中，後三者は上質するめには認められなかつた。

（4） インドールは雨イカだけでなく上質するめにも認められたが，スカトールは両者何れからも検出出来なかつた。インドール生成の母体であるトリプトファンは上質するめに比し雨イカでは極めて少量であることが，濾紙クロマト法の結果から判定された。

終りに臨み有益な御教示を頂いた東海区水産研究所右田正男博士，北大教授小幡弥太郎博士並びに研究試料を頂いた北大教授谷川英一博士に深甚の謝意を表する。

又研究費の一部は農林省水産庁応用研究費によったことを附記し，併せて感謝する。

Studies on the Oil of Yellowtail, *Seriola quinqueradiata* TEMMINCK et SCHLEGEL—I. Properties of Oil Contained in Various Parts of Sample Caught in February (Part—1) On the Oil of Ordinary and Red Meat

Hideo TSUYUKI

(*Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Nihon*)

Introduction

The yellowtail caught in January and February in Odawara district (west part of Kanagawa prefecture, Japan) is called "Kan-Buri" in Japanese and tastes good; its meat contains properly much oil. However, the fish caught after April in the same district does not taste good and is of less oil content.

Reviewing the works ever reported about the yellowtail oil, we can find only TANIMURA's study[1] about the liver and pyloric appendages oil, MIYAMA and OSAKABE's one[2] about the liver oil and TSUJIMOTO's one[3] about the visceral oil. Moreover, these works are all very brief and we have thus no knowledge as yet about the characteristics of the oil contained in various parts of yellowtail.

For the purpose of inferring the reason for which the yellowtail captured in winter tastes good, oil samples were prepared from various parts of the body and their properties were studied as follows.

Experiment

(Experimental material)

The yellowtail used in this experiment was caught in Komekami fishing ground near Odawara city on the morning of 19th of February, 1956. It was an adult male which was 101 cm. in body length and 12.4 kg. in body weight.

It was dissected within two hours after fishing and treated as follows: After the head, viscera, and red meat were removed, the ordinary meat was divided into six parts as shown in Fig. 1 and each part further into the external meat and the internal one as given in Fig. 2. After all, twelve sections of ordinary meat were obtained. In the following, the ordinary meat is simply called meat while the red meat separated from the fish body was divided into the anterior and posterior part (see Fig. 3).

The above mentioned parts were immersed in methanol immediately after dissection. After few days, each sample was drained on linen, pressed, and the collected liquid was

Received July 11, 1956

Table 1. Properties of oils and unsapo

Part of the body		Oil content (in fresh meat, %)	Appearance (at 18°C.)	$d_{4°}^{15}$	N_D^{30}	Acid value	Sapon. value
Anterior dorsal region	External meat	15.43	Dark brownish red, transparent liquid	0.8990	1.4647	1.38	161.17
	Internal meat	8.29	Reddish orange transparent liquid	0.9130	1.4626	2.38	—
Middle dorsal region	Externl meat	24.14	Dark brownish red, semitransparent, rather viscous liquid	0.9424	1.4669	2.24	169.31
	Internal meat	7.00	Reddish orange, semitransparent, viscous liquid	0.9184	1.4652	2.50	166.42
Posterior dorsal region	External meat	6.67	Brownish red, transparent liquid	0.9165	1.4630	2.28	162.85
	Internal meat	5.59	Dark brownish red, semitransparent, rather viscous liquid	0.8806	1.4606	2.85	—
Anterior ventral region	External meat	16.16	Reddish orange, transparent liquid	0.9287	1.4682	0.71	174.73
	Internal meat	16.22	Dark brownish red, semitransparent, rather viscous liquid	0.9104	1.4711	2.14	171.64
Middle ventral region	External meat	16.73	yellowish orange, semitransparent viscous liquid	0.9047	1.4679	0.87	174.92
	Internal meat	20.44	Brownish orange, semitransparent, rather viscous liquid	0.9408	1.4680	1.33	174,87
Posterior ventral region	External meat	16.71	Reddish orange, semitransparent, rather viscous liquid	0.8916	1.4630	1.43	—
	Internal meat	8.29	Reddish orange, transparent, liquid	0.8895	1.4551	1.71	—
Anterior red meat		4.40	Reddish orange, transparent, rather vicous liquid	0.9373	1.4695	1.42	151.98
Posterior red meat		4.45	Dark browish red semitransparent rather viscous liquid	0.9040	1.4667	2.03	—

* Vitamin A contents were measured with FUJITA and AOYAMA's microanalysis met

nifiable matter

Iodine value	Unsap. matter (%)	Vitamin A* (I.U./g. oil)	Vitamin D (I.U./g. oil)	Vitamin D (I.U./g. fresh meat)	Iodine value of unsap. matter
153.44	1.19	0	23.9	3.69	116.48
145.93	2.81	—	—	—	89.55
155.57	1.19	0	43.8	10.57	104.08
139.07	1.57	—	—	—	111.69
132.92	1.58	—	—	—	89.45
116.63	3.91	—	—	—	99.22
145.24	1.36	0	60.8	9.83	114.30
136.57	0.97	0	38.7	6.28	103.92
153.17	1.16	0	35.2	5.89	91.58
139.28	1.42	0	50.6	10.34	78.53
134.89	1.11	—	—	—	88.90
114.16	4.54	—	—	—	—
126.31	2.28	—	—	—	112.50
115.32	2.69	—	—	—	88.20

hod.

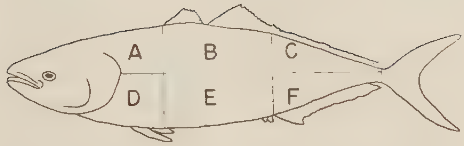


Fig. 1. Side view of yellowtail.
A : Anterior dorsal meat
B : Middle dorsal meat.
C : Posterior dorsal meat.
D : Anterior ventral meat.
E : Middle ventral meat.
F : Posterior ventral meat.

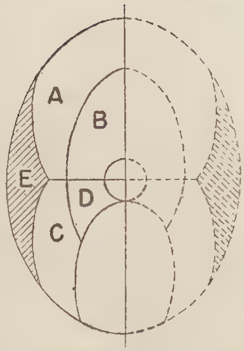


Fig. 2. Sectional diagram of yellowtail.
A : External meat of dorsal region
B : Internal meat of dorsal region.
C : External meat of ventarl region.
D : Internal meat of ventarl region.
E : Red meat.

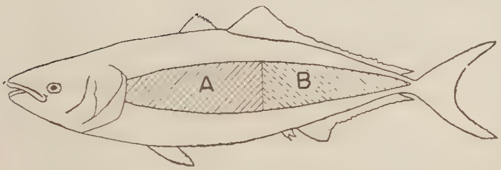


Fig. 3. Side view of yellowtail.
A : Anterior red meat.
B : Posterior red meat.

treated with anhydrous sodium sulfate. The methanal solution thus dehydrated was passed through filter paper and the methanol was driven off under the reduced pressure in an atmosphere of carbon dioxide. The residue was shaken up with ether. Thus an ether layer was obtained besides an insoluble residue. However, there was not any ether soluble material in the ether layer.

On the other hand, the oil contained in the meat remaining on the linen was extracted with ether in a Soxhlet extractor and the ether solution was dehydrated with anhydrous sodium sulfate and filtered. This filtrate was brought together with the ether solution mentioned ahead, and the ether was driven off under a reduced pressure in an atmosphere of carbon dioxide. The oil thus isolated was submitted to analysis.

(Neutral oil)

The properties of the oil contained in various parts of the fish body were examined in ordinary manners and iodine value was determined by Wijs method. Saponification was continued for four hours. Vitamin A and D contents were measured with Beckmann's spectrophotometer. The following results were obtained (Table 1).

(Unsaponifiable matters)

Their properties are shown in Table 1.

(Mixed fatty acids)

The properties of the mixed fatty acids were studied by ordinary methods. The melting points were determined in a capillary tube. The following results were obtained (Table 2).

(Solid and liquid fatty acids)

The solid-and liquid fatty acids obtained from the mixed fatty acids by the lead-salt alcohol method[4] were examined in an ordinay manner. The results are shown in Tables 3 and 4.

Table 2. Properties of mixed fatty acids

Part of the body		Appearance (at 20°C)	N_D^{30}	Melting point (°C)	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
Anterior dorsal region	External meat	Yellow solid	1.4671	30.0—32.5	154.13	181.19	309.66
	Internal meat	Yellowish white solid	1.4655	31.0—33.5	144.41	186.64	300.62
Middle dorsal region	External meat	Yellowish white solid	1.4645	30.5—32.5	158.90	191.21	293.44
	Internal meat	Yellowish white solid	1.4649	31.5—33.5	139.47	184.43	304.22
Posterior dorsal region	External meat	Brown solid	1.4690	28.5—30.5	139.54	186.42	300.98
	Internal meat	Yellowish white solid	1.4698	31.5—33.5	131.79	169.12	331.76
Anterior ventral region	External meat	Yellowish white solid	1.4710	31.0—33.0	141.75	185.98	301.69
	Internal meat	Yellow solid	1.4699	30.0—34.0	141.08	184.86	303.52
Middle ventral region	External meat	Yellowish white solid	1.4670	29.5—32.5	158.59	187.29	299.58
	Internal meat	Yellow solid	1.4683	30.0—34.0	143.59	184.05	304.85
Posterior ventral region	External meat	Yellow solid	1.4665	29.5—33.0	140.04	192.34	291.71
	Internal meat	Brown solid	1.4695	29.0—32.0	125.02	194.80	288.03
Anterior red meat		Yellowish brown solid	1.4688	28.5—29.5	130.99	178.48	314.37
Posterior red meat		Yellow solid	1.4645	29.5—32.0	124.26	182.15	308.03

Table 3. Properties of solid fatty acids

Parts of the body		Per cent. in mixed fatty acids	Appearance (at 30°C)	N_D^{60}	Melting point (°C)	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
Anterior dorsal region	External meat	26.41	Yellowish white solid	1.4367	45—47	17.73	218.19	263.18
	Internal meat	36.57	Yellowish white solid	1.4378	39—42	34.94	212.76	263.71
Middle dorsal region	External meat	22.33	Yellowish white solid	1.4373	45—49	32.35	214.16	261.99
	Internal meat	42.11	Yellowish brown solid	1.4388	42—45	41.64	201.68	278.20
Posternal dorsal region	External meat	43.64	Yellowish brown solid	1.4428	41—45	28.20	195.22	287.41
	Internal meat	—	—	—	—	—	—	—
Anterior ventral region	External meat	40.11	Yellowish white solid	1.4380	41—45	38.92	203.71	275.43
	Internal meat	28.47	Yellowish white solid	1.4386	42—44	51.47	207.33	270.62
Middle ventral region	External meat	34.84	Yellowish brown solid	1.4398	41—43	64.32	208.35	269.30
	Internal meat	—	—	—	—	—	—	—
Posterior ventral region	External meat	39.20	Yellowish white solid	1.4361	42—46	23.13	197.02	284.78
	Internal meat	—	—	—	—	—	—	—
Anterior red meat		43.63	Yellowish white solid	1.4430	42—45	42.76	195.05	287.66
Posterior red meat		—	—	—	—	—	—	—

Table 4. Properties of liquid fatty acids

Parts of the body		Per cent. in mixed fatty acids	Appearance (at 28°C.)	N_D^{40}	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
Anterior dorsal region	External meat	73.59	Dark red liquid	1.4625	203.07	168.83	332.33
	Internal meat	63.43	Orange liquid	1.4679	207.58	169.96	330.12
Middle dorsal region	External meat	77.67	Dark red liquid	1.4660	195.14	180.54	310.78
	Internal meat	57.89	Orange liquid	1.4665	210.10	168.22	333.54
Posterior dorsal region	External meat	56.32	Orenge liquid	1.4641	215.41	176.35	318.16
	Internal meat	—	—	—	—	—	-
Anterior ventral region	External meatl	59.89	Orange liquid	1.4635	210.34	172.30	325.64
	Internal meat	71.53	Dark red liquid	1.4671	176.17	174.92	320.76
Middle ventral region	External meat	65.16	Orange liquid	1.4670	208.92	174.30	321.90
	Internal meat	—	—	—	—	—	—
Posterior ventral region	Exteranl meat	60.80	Orange liquid	1.4631	205.70	184.31	304.42
	Internal meat	—	—	—		—	
Anterior red meat		56.37	Light yellow liquid	1.4619	—	—	—
Posterior red meat		—	—		—	—	- -

Results

Although the writer can not clearly state the conclusions because the experimental material was only one, the following items are presumed from the results obtained.

(1) In the anterior and middle dorsal region, the oil content in the external meat is much greater than that in the internal. In the posterior dorsal region, the oil content in the former is a little higher than that in the latter.

(2) In the anterior ventral region, the oil content in the external meat is roughly equal to that in the internal. However, in the middle ventral region, the oil content in the latter is a little larger than that in the former, and in the posterior ventral region, the oil content in the former is larger than that in the latter.

(3) The oil content in the red meat is much lower than that in the ordinary meat.

(4) The oil content in the posterior part is smaller than that in the anterior and middle parts. Above all, that in posterior internal meat is very low.

(5) Iodine value of the oil in the external meat is higher than that in the internal.

(6) Iodine value of the oil in the posterior meat is lower than that in the anterior and middle meat. Especially, that in the posterior internal meat is very low.

(7) Saponification value of the oil in the external meat seems to be generally higher than that in the internal.

(8) Acid value of the oil in the external meat is lower than that in the internal.

(9) As for the unsaponifiable matter in the oil contained in the portion other than ante-

rior ventral region, the oil of internal meat is a little more concentrated in this matter than that of external meat.

(10) The oil obtained from the red meat contains unsaponifiable matter in a little higher concentration than that from the ordinary meat.

(11) Vitamin A is contained neither in the oils from the meat nor in those from the red meat. However, a small amount of vitamin D is present in the oil obtained from the meat.

(12) The oil from the meat and the red meat is constituted of mixed fatty acids of comparatively large molecular weight.

(13) The degree of unsaturation of the mixed fatty acids is smallest for the posterior internal meat oil.

(14) The degree of unsaturation of unsaponifiable matter is smallest for the oil from the posterior ventral internal meat and largest for that from the anterior external meat.

(15) Average molecular weight of the mixed fatty acids in the oil from the meat and red meat is roughly 288 to 330. Average molecular weight of the solid fatty acids from the above oil is roughly 262 to 288 and those of the liquid fatty acids 304 to 334.

(16) The relative amount of the solid fatty acids to the mixed fatty acids is rough 22 to 43.

Acknowledgements

It is a pleasure that the writer expresses here his sincere thanks to Messrs. T. Haga, A. Endo and T. Seo who cooperated with him in the present work. He wishes to express his heartfelt thanks to Prof. A. Shionoya for the kind advice and to Dr. A. Fujita for measuring of vitamin A and D.

References

1) S. Tanimura : Suisan-Kōshūjyo-Shiken-Hōkoku, **15**, 37—54 (1920).
2) Y. Miyama & I. Osakabe : Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **9**, 16—20 (1940).
3) M. Tsujimoto : "Kaisan-Dōbutsu-yu (Marine animal oil)" in Japanese, Maruzen, Tokyo (1926) pp. 235—236.
4) E. Twitchell : J. Ind. Eng. Chem., **13**, 806—807 (1921).

Studies on the Oil of Yellowtail, *Seriola quinqueradiata* TEMMINCK et SCHLEGEL,—Ⅱ. Properties of Oil Contained in Various Parts of Some Samples Caught in April

Hideo TSUYUKI and Minoru OKUNO
(Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Nihon)

In the present work, the authors studied the properties of the oil contained in various part of yellowtail caught during the beginning of April to the middle of the same month, 1956.

Experiment

The oil contained in various parts of some samples caught in three fishing grounds near Odawara City were prepared by boiling the materials with water soon after the catch and refined with a centrifugal separator. The materials used were as follows:

(A) Six eyeballs, five ovaries, eight testis, ten livers, thirteen pyloric appendages, three heads, four "nakaochi" in Japanese (back-bone with a small quantity of ordinary meat) and ten pieces of red meats of yellowtail (9.20 kg.-10.30 kg. in body weight) caught in Ōiso fishing ground on the 1st of April, 1956.

In the case of ovary, however, after a greater part of the oil was separated by boiling with water, the oil remaining in the pressed cake was extracted with ether in a Soxhlet extractor and the former oil was brought together with the latter.

(B) Eight heads and three "nakaochi" of samples (8.95 kg.-10.15 kg. in body weight) caught in Koyawata fishing ground on the 5th of April, 1956.

(C) Pyloric appendages, spleens and livers of ten samples (9.10 kg.-10.25 kg. in body weight) caught in the Komekami fishing ground on the 13th of April, 1956.

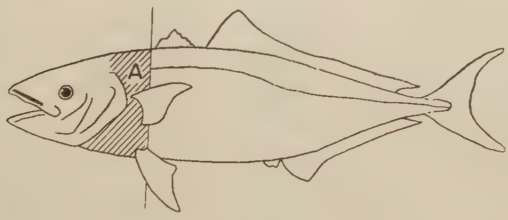


Fig. 1. Side view of a yellowtail.
A: "Kama"

In this case, however, the oils were prepared by the extraction with methanol followed by ether by the same method as that in the previous report.

(D) Skins carrying a small quantity of subcutaneous deposit fat, red meat and "kama" in Japanese (the anterior part of body; see Fig. 1) of ten samples (8.50kg.-10.15 kg. in body weight) caught in the Komekami fishing ground on the 15th of April, 1956.

Received July 11, 1956.

Table 1. Properties of oil contained in various parts of some samples caught in April 1956

No.	Parts of the body	Oil content (in fresh sample, %)	Appearance	d_4^{30}	N_D^{30}	Acid value	Sapon. value	Iodine value	Unsap. matter (%)	Vitamin A* (I.U./g. oil)	Vitamin D (I.U./g. oil)
A	Eyeball	—	Brownish white, semi-transparent liquid (at 18°C)	0.9167	1.4759	3.16	159.49	184.40	—	—	—
A	Ovary	2.08	Brown, opague, viscous liquid (at 18°C)	0.9234	1.4769	10.51	163.73	136.16	10.11	—	—
A	Testis	—	Yellowish, white solid (at 18°C)	0.9074	1.4718	7.22	172.24	141.75	2.37	—	—
A	Liver	—	Yellow liquid (at 18°C)	0.9184	1.4749	5.35	—	168.40	—	—	—
A	Pyloric appendages	—	Brownish white, opaque viscous liquid (at 18°C)	0.9107	1.4720	8.05	174.65	141.08	0.56	8.4	80.8
A	Head	—	Yellowish white, semi-transparent liquid (at 18°C)	0.9156	1.4769	0.26	176.03	177.65	2.40	—	39.7
A	"Nakaochi"	—	Yellow, transparent liquid (at 18°C)	0.8961	1.4753	1.00	172.99	167.48	1.12	—	—
A	Red meat	—	Orange, semitransparent, viscous liquid (at 18C)	0.9137	1.4746	0.79	177.82	166.87	0.93	—	—
B	Head	—	Light brown, semitrans-parent liquid (at 15°C)	0.9114	1.4769	1.12	172.65	175.25	1.62	0	36.8
B	"Nakaochi"	—	Light brown, semitrans-parent liquid (at 15°C)	0.9269	1.4764	2.29	167.87	168.72	0.76	—	—
C	Pyloric appendages	24.05	Reddish brown, trans-parent liquid (at 25°C)	—	1.4649	9.34	173.76	121.71	1.25	—	—
C	Spleen	4.40	Reddish brown, trans-parent liquid (at 25°C)	—	1.4482	14.57	143.57	99.69	7.14	—	—
C	Liver	12.12	Reddish brown, trans-parent liquid (at 25°C)	—	1.4703	8.89	164.60	146.60	1.53	—	—
D	Skin	—	Yellowish orange, trans-parent liquid (at 20°C)	0.8995	1.4745	1.68	188.62	166.62	0.67	—	—
D	Red meat	—	Brown, semitransparent liquid (at 20°C)	0.9013	1.4742	1.92	170.99	169.16	0.93	—	—
D	"Kama"	—	Brown, semitransparent liquid (at 20°C)	0.9105	1.4734	4.25	176.69	167.51	0.77	—	—

* Vitamin A contents were measured with Fujita and Aoyama's microanalysis method.

Some properties of the oil, together with their contents of unsaponifiable matter and mixed fatty acids were measured in the ordinary manner. Vitamin A and D contents were measured with BECKMANN's spectrophotometer. The results obtained are shown in Tables 1 to 3. Solid-and liquid fatty acids were separated from the mixed fatty acids after the TWITCHELL's method.[1] Their properties are shown in Table 4 and 5.

Table 2. Properties of unsaponifiable matter

No.	Parts of the body	Appearance	Refractive index	Melting point (°C)	Iodine value
A	Ovary	Yellow solid (at 20°C)	N_D^{30} : 1.4750	28∼35	67.13
	Testis	Yellow solid (at 20°C)	——	——	42.48
	Head	Yellowish brown, solid (at 20°C)	N_D^{50} : 1.4428	32∼36	78.17
	" Nakaochi "	Yellowish brown, opague-viscous liquid (at 20°C)	N_D^{50} : 1.3913	——	68.78
	Red meat	Yellowish brown, opague viscous liquid (at 20°C)	N_D^{30} : 1.4750	28∼35	69.03
B	Head	Yellowish brown solid (at 25°C)	N_D^{40} : 1.4233	29∼37	74.49
	" Nakaochi "	Yellowish brown solid (at 25°C)	——	——	119.03
	Skin	Yellowish brown, viscous liquid (at 20°C)	——	22∼28	93.10
D	Red meat	Reddish brown, viscous liquid (at 20°C)	N_D^{50} : 1.3693	23∼29	96.70
	" Kama "	Reddish brown, viscous liquid (at 20°C)	N_D^{30} : 1.4192	24∼29	71.32

Table 3. Properties of mixed fatty acids

No.	Parts of the body	Appearance (at 20°C)	Refractive index	Melting point (°C)	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
A	Eyeball	Yellowish white solid	N_D^{35} : 1.4749	24∼32	187.79	160.70	349.15
	Ovary	Brown solid	N_D^{35} : 1.4647	23∼30	143.93	174.32	321.87
	Testis	Yellowish white solid	N_D^{35} : 1.4640	24∼32	147.53	188.16	298.19
	Pyloric appendages	Yellowish brown solid	N_D^{35} : 1.4640	27∼30	141.91	178.31	314.67
	Head	Yellow solid	N_D^{40} : 1.4638	24∼31	177.77	178.53	314.28
	" Nakaochi "	Yellowish brown solid	N_D^{40} : 1.4552	27∼33	169.03	176.68	317.57
	Red meat	Yellowish brown solid	N_D^{40} : 1.4518	26∼31	167.99	175.74	319.27
B	Head	Yellowish brown solid	N_D^{35} : 1.4662	26∼32	168.65	176.32	318.22
	" Nakaochi "	Yellowish brown solid	N_D^{40} : 1.4577	25∼31	169.67	175.84	319.10
	Skin	Yellow solid	N_D^{40} : 1.4671	24∼32	168.24	197.35	284.30
D	Red meat	Yellowish orange solid	N_D^{40} : 1.4578	26∼30	169.27	175.12	320.40
	" Kama "	Yellowish brown solid	N_D^{40} : 1.4578	26∼32	168.35	179.92	311.85

Table 4. Properties of solid fatty acids

No.	Parts of the body	Per cent. in mixed fatty acids	Appearence	Refractive index	Melting point (°C)	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
A	Pyloric appendages	28.62	Brown solid (at 25°C)	N_D^{60} : 1.4442	52～57	61.29	191.14	293.54
	Head	21.88	Yellowish white solid (at 25°C)	N_D^{60} : 1.4445	34～43	65.87	195.53	286.96
	"Nakaochi"	34.43	Yellowish white solid (at 25°C)	N_D^{60} : 1.4359	42～47	38.70	197.64	283.89
	Red meat	27.28	Yellowish white solid (at 25°C)	N_D^{60} : 1.4362	40～46	54.44	206.02	272.34
B	Head	27.88	Yellowish white solid (at 20°C)	N_D^{60} : 1.4477	35～43	68.12	195.35	286.70
	"Nakaochi"	21.56	Yellowish white solid (at 20°C)	N_D^{60} : 1.4383	42～46	78.92	195.50	287.00
D	Red meat	14.92	Yellowish white solid (at 25°C)	N_D^{75} : 1.4467	38～44	51.39	189.85	295.54
	"Kama"	22.75	Yellowish white solid (at 25°C)	N_D^{60} : 1.4354	41～47	28.17	200.94	279.72

Table 5. Properties of liquid fatty acids

No.	Parts of the body	Per cent. in mixed fatty acid	Appearance	N_D^{40}	Iodine value	Neutralization value	Average molecular weight
A	Pyrolic appendages	71.38	Dark red, transparent liquid (at 25°C)	1.4611	174.23	171.56	327.05
	Head	78.12	Reddish brown, transparent liquid (25°C)	1.4693	208.37	169.82	330.40
	"Nakaochi"	65.57	Orange, transparent liquid (at 25°C)	1.4630	222.06	165.45	339.12
	Red meat	71.80	Orange, transparent liquid (at 25°C)	1.4624	212.22	164.73	340.61
B	Head	72.12	Reddish brown, transparent liquid (at 20°C)	1.4682	205.83	168.90	332.20
	"Nakaochi"	78.42	Orange, transparent liquid (at 20°C)	1.4637	195.30	166.50	337.90
C	Red meat	85.08	Orange, transparent liquid (at 25°C)	1.4651	189.74	172.36	325.53
	"Kama"	77.20	Orange, transparent liquid (at 25°C)	1.4617	209.71	173.15	324.04

Results

The writers summarized the results obtained as follows;

(1) The oil content in the pyloric appendages is much larger than that in the liver. The oil content in the spleen is far smaller than that of the above two organs examined.

(2) Acid value of the oils from the head, "Nakaochi," red meat, skin and eyeball is lower than that of the other oils. While, acid value of the spleen oil is very high.

(3) Saponification value of the spleen oil is very low.

(4) Iodine value of the oils obtained from the head, "Nakaochi," red meat, skin and eyeball is higher than that of the oils from the ovary, testis, pyloric appendages, liver and spleen. Iodine value of the eyeball oil is very high.

(5) The amounts of unsaponifiable matter in the oil from ovary and spleen are very large.

(6) The oil in pyloric appendages contains some amount of vitamin A and D. And the head oil contains some quantity of vitamin D.

(7) The degree of unsaturation of the mixed fatty acids is larger in the case of the oil obtained from the head, "nakaochi," red meat, skin and eyeball than that of the oil from the ovary, testis and pyloric appendages.

(8) The degree of unsaturation of unsaponifiable matter is larger in the case of the oil from the head, "nakaochi," red meat and skin than in that of the testis oil.

(9) The mixed fatty acids of eyeball showed comparatively large molecular weight.

(10) The average molecular weight of the mixed fatty acids obtained from the ovary oil seems to be larger than that from the testis oil.

(11) The relative amount of the solid fatty acids to the mixed fatty acids is rough 15 to 34.

Acknowledgements

The writers wish to express their heartfelt thanks to Prof. A. SHIONOYA for his kind advice and to Dr. A. FUJITA for measuring vitamin A and D.

Reference

1) E. TWICHELL : J. Ind. Eng. Chem., 13, 9, 806-807 (1921).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究―Ⅶ. ビタミンA濃縮物のエステル化（其の 2） ケテンによるアセチル化

東　秀雄・衣巻豊輔
（東海区水産研究所）

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—Ⅶ. Esterification of Vitamin A Concentrate 2. Acetylation with Ketene.

Hideo HIGASHI and Toyosuke KINUMAKI

Acetylation of vitamin A concentrate was examined, using ketene (CH=C=O) prepared in the generator illustrated in fig. 1. In the generator, vapour of refluxing acetone came in contact with a glowing grid of resistance wire and underwent cracking to produce ketene, CH_4, CO etc., and the ketene evolved in the gas stream along with CH_4 and CO was bubbled through the benzene solution of vitamin A concentrate.

The following results were obtained.

1). At room temperature, ketene reacted readily with vitamin A concentrate to give its acetate, and no catalyst was needed for this reaction.

2). The amount of ketene to complete acetylation was one mole per one OH group of vitamin A concentrate to be acetylated.

3). The loss of vitamin A due to destruction scarcely occurred in this method.

4). This method of acetylation was far simpler and more economical in the technique and operation than that with acetyl chloride and pyridine.

緒　言

本研究第Ⅵ報に於て酸クロリドによるビタミンA濃縮物（以下単にA濃縮物と記す）のエステル化に就て報告したが，操作がより容易で，且経済的なエステル化法であるケテン（$CH_2=C=O$）によるアセチル化について研究した結果をこゝに報告する。

ケテンは沸点 −56°C で，アルコール，酸等と直接反応して夫々エステル及び酸無水物を作るが，一級アルコールであるビタミンAとの反応も極めて容易である。A濃縮物の溶液にケテンを通ずるのみで，A濃縮物の Acetate が出来る。この際何ら触媒を要せず，室温に於て反応は進行し，ビタミンAの損失はない。反応後過剰のケテンを不活性ガスで追出し，溶剤を除去すればA濃縮物の Acetate が得られる。酸クロリドによるアセチル化の場合の如く，ピリヂンも不要且面倒な洗滌操作を全然行わないですむ。

ケテンは普通，実験室的にはケテンランプを使用してアセトンを熱分解して製造するが，工業的には無水酢酸の製造に使われる如き酢酸の熱分解による更に能率のよい方法もあるから，工業的にA濃縮物のアセチル化を行う場合には，アセチルクロリドによるエステル化方法よりも遙かに経済的に行い得る。

1956 年8月 30 日受理　東海区水産研究所業績B第 253 号

実験の部

1) 装　置

実験に使用したケテン発生装置は，Fig. 1 に示す如きもので，1時間に約 0.5 mol のケテンを発生せしめ得る。

2) 試　薬

試薬はアセトン及びベンゾールでいずれも脱水精製したものを使用する。

3) 実験方法並びに結果

i) ケテンの発生

Fig. 1 に示したケテン発生装置のフラスコ（C）にアセトンを入れ，これを加熱してアセトンを蒸溜還流せしめ，ケテンランプ (B) 中の空気を追い出してからニクロム線に電流を通じ，約 700～750°C 程度に加熱し，アセトンを熱分解してケテンを発生せしめる。トラップ（F），（G）及び吸湿管（H）でアセトン及び僅かに副生する水を捕集する。流量計（I）の指示が一定になつてから反応容器（J）にケテンを通ずる。

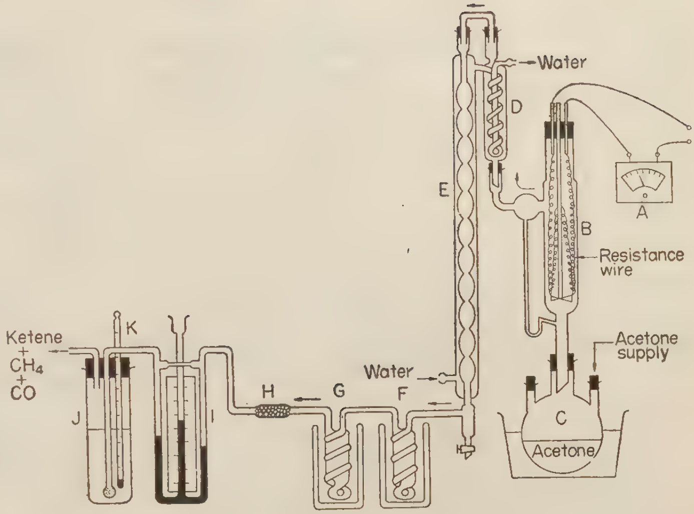


Fig. 1. ケテン発生装置 Ketene generator

A : 電流計 Ammeter,
B : ケテンランプ Ketene lamp,
C : 三頸フラスコ Three neck flask,
D, E : 冷却器 Condenser,
F, G : トラップ Trap,
H : 吸湿管 Absorption tube,
I : 流量計 Flow meter,
J : 反応容器Reaction vessel,
K : 温度計 Thermometer.

このケテン発生装置によるケテンの発生量を知る為，反応容器（J）にアルカリ水を入れ，一定時間ケテンを

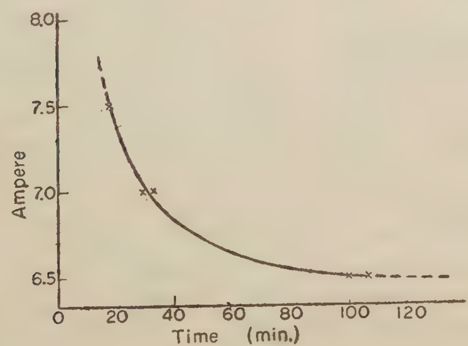


Fig. 2. ニクロム線の電流と 0.1 モルのケテンを発生するに要する時間との関係

Relation between the amperage of resistance wire and time required for the production of 0.1 mole of ketene.

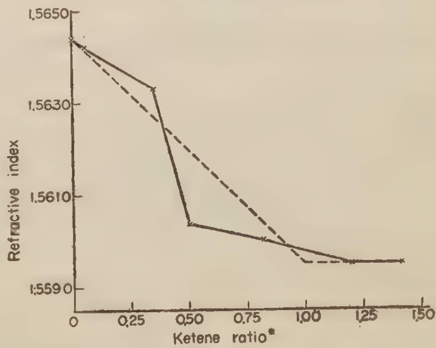


Fig. 3. アセチル化の進行と反応容器を通過するケテン量との関係

Relation between the rate of acetylation and the amount of ketene passed through the reaction vessel.

$$\text{* Ketene ratio} = \frac{\text{The amount of ketene passed through the reaction vessel}}{\text{The amount of keten required theoretically for acetylation}}$$

Table 1. ケテンによるA濃縮物アセテイトの性状並びに回収率

Properties of vitamin A concentrate and its acetate prepared with ketene and the recovery in acetylation

原料 Material		重量 Wt. (gr.)	単位 V.A potency ×10[4] U.S.P.U.	吸光比 E value ratio	屈折率 Refr. I. n_D^{40}	鹸化価 Sap. V.	回収率 V.A. recovery (%)
混合肝油 Mixed fish liver oil	A濃縮物 Vitamin A concentrate	3.65	113	0.764	1.5610		
	アセテイト Acetate	4.03	95.2	—	1.5470	—	93.2
	CH_3COCl による アセテイト Acetate with CH_3COCl	4.0	96.5	0.747	1.5470	147	94.3
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	23.0	241.4	0.670	—	—	—
	アセテイト Acetate	26.1	217	0.640	—	—	102.0
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	5.25	74.8	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	5.73	65	—	—	—	94.9
マグロ肝油 Tuna liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	9.75	192	0.602	—	—	—
	アセテイト Acetate	11.66	159	0.576	—	—	99.2
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	4.6	194.5		—	—	—
	アセテイト Acetate	5.1	172	0.622	—	—	97.5
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	9.72	192	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	11.65	159	—	—	—	99.2
イシナギ肝油 "Ishinagi" liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	23.6	241.5	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	26.1	217	—	—	—	102
大鮫肝油 Shark liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	4.92	112	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	5.53	96.4	—	—	—	97.3
ヨシキリザメ肝油 Great blue shark liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	3.07	155.5	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	3.58	132	—	—	—	99.0
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	3.49	163.5	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	3.96	145	—	—	—	100.5
イシナギ・鯨・混合肝油 Mixed liver oil of "Ishinagi" and whale	A濃縮物 V.A. Conc.	2.45	158.1	0.694	1.5689	—	—
	アセテイト Acetate	2.7	146	—	1.5570	145	—
スケソウ肝油 Pollack liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	38.2	217.8	—	—		—
	アセテイト Acetate	43.9	191.3	0.648	—	176.5	99.5
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	19.8	195.5	0.642	—		
	アセテイト Acetate	20.4	173.8	0.624	—	191	91.8
アブラガレイ肝油 Flat fish liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	4.74	178	0.648	—	—	—
	アセテイト Acetate	5.41	151.8	0.636	—	—	97.5
ヨシキリ・ヒラガシラ混合肝油 Mixed shark liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	3.6	192.1	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	4.0	169	—	—	—	97.7

キハダ・メバチ混合肝油 Mixed tuna liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	3.6	173.8	—		—	—
	アセテイト Acetate	4.2	142.5	—	—	—	96.0
〃	A濃縮物 V.A. Conc.	3.6	198	—	—	—	—
	アセテイト Acetate	4.2	164.2	—	—	—	97.3
シュモク・ヤジ混合肝油 Mixed shark liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	2.3	182.8	—	—	—	
	アセテイト Acetate	2.7	155	—	—	—	99.5
アブラザメ Dog fish liver oil	A濃縮物 V.A. Conc.	3.5	126.7	—	—	—	
	アセテイト Acetate	3.9	120	—	—	—	105.2

通じた後，残存アルカリを酸で滴定して算出した*。便宜上縦軸にニクロム線を流れる電流，横軸にケテン0.1 molが反応容器を通過するに要する時間をとつてみると，Fig. 2 が得られる。

ii）アセチル化に必要とされるケテンの量

先ずA濃縮物試料をベンゾールに溶解し，ケテンガスを通じてアセチル化する。この場合A濃縮物のアセチル化され得べき OH 基1個に対し，反応容器を通過するケテンが何 Mol 必要であるかを知らんとした。アセチル化の進行は屈折率の減少で示し，ケテンの通過量は OH 基1個をアセチル化するに要する理論ケテン量に対する比として表わすと Fig. 3 が得られる。

ケテンの発生量をこの装置で厳密に一定にすることは困難であるから，発生量が一定で順次にアセチル化が行われると仮定した場合の線（図では点線で示す）よりは点が多少ふれるが，大体に於て反応容器を通過するケテンが理論量に等しくなつた時，アセチル化が完了することが判る。

iii）アセチル化の完了した時期を知る方法

i）及び ii）の結果より，試料の量とアセチル価が判れば必要ケテン量がきまるから，アセチル化に必要な大体の時間は Fig. 2 より求められる。

尚，アセチル化反応の完了の時期を求めるには，アセチル化反応による温度上昇を測定するのが便利である**。

即ち，A溶液の温度上昇が止み，溶剤の気化熱の為，逆に温度が下降するに至つたならば，反応は完了したものと認められる。

iv）生成せるA濃縮物の Acetate の性状並びに回収率

アセチル化完了後，反応容器をはずし，一方の口より N_2 ガスを吹込み，過剰のケテンを追い出し，溶剤を蒸溜し去ればA濃縮物の Acetate が得られる。この方法による Acetate の性状を Table 1 に示す。この場合のA回収率は大体に於て 100 %に近く，アセチルクロリドによるアセチル化の場合と比較しても優れている。

摘　　要

ケテンによるA濃縮物のアセチル化につき検討し，次の結果を得た。

1) 触媒を使用せずして，反応は室温で進行し，この際Aの破壊される様な事はない。
2) ケテンの量はビタミンA濃縮物のアセチル化さるべき OH 基1個に対し 1 Mol で充分である。
3) アセチル化によりAの損失は殆どない。
4) アセチルクロリド，ピリヂンを使用するアセチル化よりも，操作が簡単且経済的である。

本研究に当り，ケテンの製法其の他につき御教示をたまわつた東京工業大学岩倉義男教授及びその研究室員の諸氏に感謝いたします。

---

* アセトンの熱分解の結果生ずるガスは CH_4，CO 等とケテンとの混合物であるから，流量計の指示よりケテン発生量を求めることは困難である。

** 大量の試料を使用する時にはケテンの吸収による重量増加を測定する方法も便利である。

雑　録

○昭和31年度日本水産学会秋期大会 31年10月9日~12日　於広島大学
（中国・四国支部大会併行）

研究発表題目

101. 流下式塩田に発生する藻類の研究—II．塩田用殺藻剤の効果　○藤山虎也・高井瑛之・久保田久次（広　大）
102. シラス鰻の室内飼育による成長と習性の観察　江草周三・○大家正太郎（広　大）
103. 漁獲場所よりみた琵琶湖産鯉2型の季節的移動について　古川　優（滋賀水試）
104. 冬期及び初春に於ける金魚の索餌活動について　○小林新二郎・平田八郎（北　大）
105. 利根川に於けるソウギョの産卵とその種苗生産　稲葉伝三郎（水　大）
106. トビゴイに関する研究第4報．稍々大きい少数の個体群を加えた場合の飼育結果　中村中六・○笠原正五郎（東　大）
107. 諏訪湖におけるワカサギ資源　白石芳一（淡水研）
108. 海藻の生理化学的研究—III．アヲサの燐酸吸収及び排出に就て　○敦賀花人・新田忠雄（内水研）
109. 海藻類の酸素放出について　佐野　孝（東北水研）
111. オゴノリ果胞子の静水中での放出　沢田武男（九　大）
112. マフノリ及びフクロフノリの胞子放出について　松井敏夫（水　講）
113. 鹹水魚類の養成に関する研究—I．マダイの成長と給餌量との関係について　原田輝雄（近　大）
114. マアジの飼育実験について（予報）　村上子郎・○牟田邦甫（西水研）
115. マコガレイの成長と食物の消費量　○畑中正吉・小坂昌也・佐藤祐二（東北大）
116. 天草西海岸のトビウオ類の生態学的研究—第3報．バショウトビウオ *Parexoxoetus mento* (C. et V.) の生態生活史　塚原　博・○塩川　司（九　大）
117. イカナゴの生態学的研究　井上　明（内水研）
118. 小サバ *P. tapeinocephalus* の移動についての考察　○田ノ上豊隆・盛田友弌（鹿　大）
119. サヨリの生態学的研究　○国行一正・小出高弘（内水研）
120. 淡路島周辺のイカナゴについての二，三の問題　○橘　高二郎・外山公望（神戸大）
121. 道津コレクションの5新種とハゼ目魚類の側線系分布　高木和徳（水　大）
122. 周防灘に産するハモ *M. cinereus* の産卵に関する研究　高井　徹（水　講）
123. スズキ科魚類の新種　片山正夫（山口大）
124. ミノカサゴの卵発生　水戸　敏（九　大）
125. クジメの卵発生と仔魚前期　藤田矢郎（めかり水族館）
201. 養魚池におけるタマミジンコ *Moina macrocopa* Straus の分布の不均一性に就いて　村上　豊（広　大）
202. 浅海養殖場の Net-Plankton 量に就いて　○木曾　亮・古川　厚（内水研）
203. カキ養殖場の濁度に就いて　○野上和彦・古川　厚（内水研）
204. カキ養殖場に於ける Micro Suspended Matter の年間変化　○久岡　実・古川　厚（内水研）
205. 浦戸湾に於ける植物性プランクトン量の変動，特に気象要因との関係について　竹田正彦（高知大）
206. ミヂンコ *Daphnia carinata* King の冬卵産出後，栄養条件を異にした場合の繁殖経過の観察　杉目宗尚（淡水研）
208. 施肥池に於ける Anabaena の生態について　里見至弘（淡水研）
209. 内湾における餌料生物の日週活動について（大村湾漁業の基礎的研究—第4報）　山田鉄雄（長崎大）
210. 鰮ヒサゴ網の模型実験　朴　龍俊（京　大）
211. 一艘曳機船底曳網の模型実験的研究　鈴木乙彦（京　大）
213. 日向灘イワシ巾着網模型実験—V．　飯高勇之助（京　大）
214. 網糸の捩振動に就いて　永田　正（水　大）
215. 撚り糸の研究—I．荷重によるロープの性質について　石井一美・○小長谷庸夫（三重大）

216. 網地の応力分布－Ⅲ. 網地を接合した場合　草 間 秀 俊（東京工大）
〇近藤 仁・鈴木 誠（水 大）
217. 合成繊維網糸の摩擦について　深 沢 文 雄（水 講）
218. 漁具材料の使用中に於ける強さの減退について　本 多 勝 司（水 大）
219. 網地の色彩が魚群の行動に及ぼす影響について（予報Ⅲ.）
色彩の濃淡及び照度変化が魚群に及ぼす影響について　神田献二・〇小池 篤（水 大）
220. 同（予報Ⅳ.）北洋鮭鱒流し刺網に関する一基礎実験　神田献二・〇小池 篤（水 大）
221. 桂網の駆集効果に就いて　今村 豊・〇小倉通男（水 大）
222. 深海探索曳航器に関する研究－Ⅱ. 安定性向上のための曳航弾性索の利用
〇奈良迫嘉一・黒木敏郎（鹿 大）
223. 潮見糸による潮流の観側　〇川上太左英・磯打 登（京 大）
224. マグロ延縄の操業試験による漁具の構造と漁獲性能について　盛 田 友 弌（鹿 大）
226. 北洋鮭鱒流し網の羅網率について　赤 岡 民 夫（京 大）
301. 魚の死後電気抵抗変化における一考察（予報）　浅 川 末 三（広 大）
302. 蛋白変性剤の酵母細胞に対する仂き　北 御 門 学（三 重 大）
303. シイラ及びトビウオのジェリーミートの病原粘液胞子虫について　松 本 浩 一（東京都衛研）
304. 魚肉腐敗細菌のアミノ酸脱炭酸作用について　木俣正夫・〇河合 章（京 大）
305. ヒスタミン生成細菌に関する研究－Ⅵ.　木俣正夫・〇赤松幹夫（京 大）
306. 腸球菌に関する研究－第1報. 腸球菌の分布に就いて　堀 江 進（水 大）
307. 同 第2報. 腸球菌の性状と分類　堀 江 進（水 大）
308. Wet Storage せる牡蛎より分離せる溶血性連鎖球菌並に腸内細菌の分類
〇坂 井 稔（北 大）
佐 々 木 諭（広島衛研）
309. 鮫肉腐敗の微生物化学的研究－Ⅳ.
鮫肉より分離せる尿素分解菌の分類学上の位置について　木 村 喬 久（北 大）
310. 同－Ⅴ. 鮫肉より分離せる尿素分解菌の発育増殖並に尿素分解能に及ぼす
温度と食塩の影響について　木 村 喬 久（北 大）
311. イカによる食中毒の研究　〇関根 隆・堀江 進（水大）・野口栄三郎（日本海水研）
小島秩夫（衛 試）
312. Chlortetracycline の魚体内浸透と加熱による破壊について
〇米 康夫・三ケ尻和男・富山哲夫（九 大）
314. 生食々品の衛生学的研究－Ⅰ. 刺身の汚染度と次亜塩素酸曹達使用による
汚染防止効果　佐々木 諭・〇甲 充・渡辺美佐子（広島衛研）
315. 防腐剤の作用機構に関する研究－Ⅸ. ホルムアルデヒドの防腐作用に対する
酸性亜硫酸ソーダの拮抗作用について　〇山田金次郎・花井精子（東海水研）
316. 香辛料の抗菌性に関する研究－Ⅰ. クローブその他数種香辛料の抗菌性
〇土屋靖彦・森川 貫（東 京 大）
317. 魚体成分の抗菌作用に関する研究－Ⅺ.
酸化魚油中の抗菌性 Carbonyl 化合物について　豊 水 正 道（九 大）
318. 魚類の肉質変化に関する生化学的研究－第9報. 死後経過時間による
Myosin 区組成の変化について　斎藤 要・〇日高富男・高田幸二（鹿 大）
319. 同 第10報. 魚肉の Protealytie Activity について　斎藤 要・〇鮫島宗雄（鹿 大）
320. 動物組織におけるアンモニア生成に関する研究－Ⅱ.　柏 田 研 一（鹿 大）
321. 魚体の脱水素酵素に関する研究－Ⅰ. 魚肉中のコハク酸脱水素酵素の測定について
福 田 博 業（宮 崎 大）
322. 同－Ⅱ. 魚肉中の乳酸脱水素酵素ならびにグルタミン酸脱水素酵素の測定について
福 田 博 業（宮 崎 大）
323. 魚類プロテアーゼに関する研究（9）. 鮪幽門垂プロテアーゼの酵素化学的性質（3）
藤 井 実（水 講）
324. サバ肝臓リポキシダーゼについて　〇清水千秋・福原忠信（長 崎 大）
325. 二枚貝杆晶体 Amylase について－Ⅳ.　（松浦文雄氏代読）貴島静正・橋本芳郎（東 大）
401. カマボコの足と加熱温度との関係　〇岡田 稔・山崎惇子（東海水研）
402. カマボコの足に対する澱粉の補強効果（1）. 澱粉の糊化と足の補強

○岡田　稔・山崎惇子（東海水研）
403.　同（2）．澱粉の粒構造の必要性　○岡田　稔・山崎惇子（東海水研）
404.　カマボコの足について—XIII．加熱条件について　清水　亘・○志水　寛・西出　亨（京　大）
405.　魚肉ソーセージに関する研究—第1報．市販品の一般分析及び貯蔵試験について
清水　亘・上野三郎・日引重幸・藤田真夫・志水　寛・
○遠藤金次・池内常郎・高木一郎・寺島広由・中越昭子（京　大）
406.　同　第2報．殺菌加熱について（その1）
清水　亘・上野三郎・日引重幸・藤田真夫・志水　寛・
○遠藤金次・池内常郎・高木一郎・寺島広由・中越昭子（京　大）
407.　カマボコのネト形成機構について（II）．　○内山　均・天野慶之（東海水研）
408.　ねり製品の内部腐敗に関する研究—III．ねり製品内部の酸化還元電位　横　関　源　延（北水研）
409.　水産煉製品の赤変について　○木俣正夫・河合　章（京　大）
410.　魚介肉アクトミオシンと有機色素の結合に及ぼす尿素の影響　右田正男・○大竹茂夫（東海水研）
411.　電気殺菌法の研究—第17報．澱粉汚染細菌の加熱死滅と防腐剤の静菌力について
○清水　亘・上野三郎（京　大）
412.　同　第18報．好気性芽胞形成細菌の加熱死滅時における有機高分子物質による防腐剤の効力減少について　○清水　亘・上野三郎（京　大）
413.　再び罐詰内硝子様結晶の生成機構について（第1報）　○谷川英一・長沢善雄（北　大）
414.　同（第2報）　○谷川英一・長沢善雄（北　大）
416.　煮干海老の褪色防止について—I．リントンによる褪色防止効果について
○杉本仁彌・勝乗妙子（内水研）
417.　油脂の変敗に関するポーラログラフ的研究—IV．油脂変敗生成物について
○菊地武昭・岡田郁之助（水　大）
418.　水産食品に対する防蠅・防蛆についての研究　○竹井　誠・高橋豊雄（東海水研）
419.　カツオ節カビに関する研究—I．カビ付によるアミノ酸の消長　金　沢　昭　夫（鹿　大）
420.　アコヤ貝肉の利用に関する研究—I．貝柱エキスの細菌培養基としての価値
○中島次郎（三重水試）・三宅正人・林　孝市郎（三重大）
421.　魚皮ゼラチンについて—II．ゼラチンを加熱する際における物理的性質及び末端アミノ酸の変化について　高橋豊雄・○横山和吉（東海水研）
422.　魚皮鞣製の基礎的研究．石灰漬中の可溶性窒素成分について
越智通秋・○永吉秀夫・西元諄一（鹿　大）
423.　アコヤガイ及びイケテフガイの生化学的研究—VII．アコヤガイ・イケテフガイ各器管より Mucopoly saccharide の分離　堀　口　吉　重（三重大）
424.　同—VIII．アコヤガイの外套膜，閉殻筋より分離した Solfo mucopoly saccharide の構成成分　堀　口　吉　重（三重大）
425.　同—IX．アコヤガイ・イケテフガイの介殻中に含まれる Poly saccharide　堀口吉重（三重大）
426.　水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—V．　○斎藤恒行・新井健一（北　大）
427.　カツオ幽門垂に存在する Leuconostoc Citrovorum 新因子に就いて
柿本大壱・○金沢昭夫・柏田研一（鹿　大）

126.　魚類の耳石における ca^{45} の沈着について　入　江　隆　明（広　大）
127.　血清蛋白質，濾紙電気，泳動図に依る病態水産動物の診断技法に関する研究—第1報
村　地　四　郎（広　大）
128.　鮑の年輪形成について　酒　井　誠　一（東北大）
129.　二枚貝の産卵誘発について（予報）　相　良　順　一　郎（東海水研）
130.　イガイ *Mytilus crassitesta* Lischke の生態学的研究—I．成長と産卵期
井　上　　泰（山口内水試）
131.　二枚貝の水管系の発達と生態との関連に就いて　吉田　裕・○網尾　勝・桑野隆一（水　講）
132.　モガイの採苗に関する研究　竹内資三・松浦孝之・○木村知博（広島水試）
133.　青ナマコと赤ナマコの相違について（予報）　大島泰雄・○崔　相（東　大）
134.　イカリ虫の生態及び防除に関する研究（予報）　笠　原　正　五　郎（東　大）
135.　キセワタの産卵及び発生　浜　田　颯　子（東海水研）

136. イカの卵の孵化について二，三の追加　（橘　高二郎氏代読）麓　禎康・広瀬義夫（神戸大）
137. 三原湾の底層魚，エビ類の食性（Ⅰ）．底棲動物　○小林真一・北森良之助・永田樹三（内水研）
138. 三原湾の底層魚，エビ類の食性（Ⅱ）．小型甲殼類
○永田樹三・北森良之助・小林真一（内水研）
139. 三原湾の底層魚，エビ類の食性（Ⅲ）．食性　○北森良之助・小林真一・永田樹三（内水研）
140. 瀬戸内海産エビ類3種の底質選択性について　小林歌男（内水研）
141. 干潟に依存するエビ類に就いて　鈴木正也（内水研）
142. 瀬戸内海のエビ漁況について　安田治三郎（内水研）
143. Genus Metapen aeopsis の分布について　篠岡久夫（内水研）
145. クルマエビ属の発生（Ⅰ）．サルエビの発生　藤永元作（水産庁）・○渡辺正雄（資源研）
146. 餌料微生物の種保存法に関する研究　大島泰雄・○平野礼二郎（東大）・狩谷貞二（東北大）
147. 年輪の形成要因についての再検討　安田秀明（水大）
148. 魚類の年令形質に顕われる輪紋の相似性について
相川広秋・江波澄雄・○竹下貢二・猪子嘉生・三尾真一・三淵英弘（九大）
149. 魚類の網膜活動電位（ＥＲＧ）の要素　小林博（水講）
150. 真珠の品質と水中照度との関係　○渡辺哲光（三重大）・宮村光武（三重水試）
228. 魚食性魚類の攝餌機構（第2報）．捕食種による餌の選択曲線の相違
○林　知夫・山口義昭（内水研）
227. 同（第3報）．餌生物の Size の序列　林　知夫・○山口義昭（内水研）
229. 瀬戸内海におけるカタクチイワシの成熟　高尾龜次（内水研）
232. 東京湾におけるカタクチイワシ漁場について　井上実（水大）
233. Creel Census における漁獲努力量の補正係数について　小野寺好之（淡水研）
235. 小型底曳漁獲物の構造　○多々良　薫・花岡　資（内水研）
236. 魚類生態に関与する水中音響の基礎的研究―Ⅳ．無反響水槽壁に関する研究
黒木敏郎（鹿大）
237. 活魚輸送に関する研究　川本信之（三重大）
238. 水槽内に於ける各種環境条件の研究（Ⅰ）　○出口吉昭・小久保清治（日大）
326. 福山地方の河川水及海水の放射能雨による汚染調査　竹下伊佐雄（広大）
327. 内湾に於ける有機栄養塩類の年変化　○村上彰男（内水研）
330. 海水中ビタミン B_{12} に関する研究―Ⅱ．海洋における B_{12} の水平並に垂直分布について
○柏田研一・柿本大壱・盛田友弌（鹿大）
331. 海洋性硫酸塩還元細菌に関する研究（Ⅸ）．海洋性硫酸塩還元細菌の栄養について（その3）
木俣正夫・門田　元・○畑　幸彦（京大）
332. 干潟の土壤による酵母の吸着について　末広澄夫（九大）
333. 瀬戸内海に於ける底質のＣＩ曲線の検討　荒川　清（内水研）
334. 工場廃水による沈降性懸濁物について（其の1）．海中における沈降量を知る試み
伊賀原彌一郎（内水研）
335. 毒物による魚介類の死亡―Ⅱ．農薬による仔鯉の死亡　吉原友吉（水大）
336. 塩素を使用する火力発電所廃水の沿岸生物に及ぼす影響―Ⅰ．水中の微量塩素の定量法
○石尾真彌・福島信明・小林邦男（九大）
337. 同―Ⅱ．放水路近傍の塩素分布　○石尾真彌・福島信明・小林邦男（九大）
338. 同―Ⅲ．塩素に対する水棲動物の抵抗力　○石尾真彌・福島信明・小林邦男（九大）
339. 亜鉛鍍水道管からの亜鉛溶出と，その水産生物に及ぼす害作用について
○遠藤拓郎・松江吉行（東大）
428. 海藻の揮発成分に関する化学的研究（第Ⅷ報）．海人草の揮発成分について〔追補〕
片山輝久（広大）
429. 暖冬期に於ける寒天の変敗防止に関する研究―Ⅱ．
トコロテン変敗中の成分の変化について　○藤沢浩明・助川輝武（兵庫水試）
430. 同―Ⅲ．トコロテンの変敗に関与する細菌に対する防腐剤の効力について
○藤沢浩明・助川輝武（兵庫水試）
431. 同―Ⅳ．“ダンカン”防止の現地試験について　○藤沢浩明・助川輝武（兵庫水試）
432. アルギン酸ソーダゲルの濃厚中性的溶液中における膨潤　岸本　昭（京大）
433. 海藻粘質物水溶液の物理化学的研究　二宮和彦（京大）

434. キリンサイ *Euceuma spinosum* (L) J. AG. 粘質物に関する研究—IV. 構成糖に関する研究　中村武彦（宮崎大）
435. 寒天ゾルに対する表面活性電解質の作用について　谷井　潔（東北水研）
436. 水産物中に於けるビタミンB_6に関する研究—VIII. B_6の濾紙電気泳動　林　孝市郎（三重大）
437. 同　IX. 海藻中のB_6分布　林　孝市郎（三重大）
438. カツオ内臓の飼料化に関する研究—I. ビタミンB_{12}含量について　柏田研一・柿本大弐（鹿大）・○弟子丸　修（鹿児島水試）
439. 肝臓の造血成分に関する研究——家兎血液の酸素消費増強効果について　○野村　稔・米　康夫・富山哲夫（九大）
440. 水産動物色素に関する研究—第7報（其の1）. アカメバル体皮色素について　西堀幸吉（ノートルダム清心女子大）
441. マグロ筋肉の脂質—III. 血合筋及び普通筋のレシチン　○五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男（北大）
443. 魚類のトロポミオシンに就いて—I. 分離・精製　吉村克二・○久保周一郎（北大）
444. 同　第2報. アミノ酸組成に就いて　吉村克二・○久保周一郎（北大）
445. 血合筋肉の化学的研究—VII. ミオグロビンの新定量法について（其の2）　○松浦文雄・橋本周久（東大）
446. 魚類血液の生化学的研究—XI. 血清蛋白質組成の電気泳動的特性について　斎藤　要（鹿大）
447. カツオ幽門垂より分離せるポリペプタイドに就いて　○金沢昭夫・柿本大壱・柏田研一（鹿大）
448. 水産動物肉に関する研究—XXXI. 貝介肉エキス中のグリシン含量　○高木一郎・清水　亘（京大）
449. 同　XXXIV. 魚介成分の季節的消長，特に味との関連について　○高木一郎・清水　亘（京大）
450. 水産動物のエキス成分—I. クルマエビ筋肉中の遊離アミノ酸について　○森　高次郎・鴻巣章二・秋山明子（東大）
501. 有用貝類の Gill 構造（特に攝餌に関連して）.　○小笠原義光・古川　厚（内水研）
502. 北太平洋東西両岸に於けるアワビ属の分布　猪野　峻（東海水研）
503. アコヤガイ介殻の層状構造　渡辺哲光（三重大）・○和田浩爾（真珠研）
504. 瀬戸内海，殊に鳴門海峡産のワカメについて　新崎盛敏（東大）
505. 青肉に関する研究第3報. 青肉の原因となる筋肉色素について　山下六郎・○高橋信之（日冷）
506. 昭和 31 年南太平洋でとれた汚染魚の放射化学分析　○河端俊治・三浦利之（予防衛研）
507. 1956 年核爆発実験による放射能汚染魚の放射性物質　森　高次郎・○佐伯誠道・白井和雄・大野　駿（東大）
508. 島原の海苔養殖場　岡田喜一（長大）

シ　ン　ポ　ジ　ウ　ム

浅海増殖に関するシンポジウム

養殖漁場の特性とその調査方法（10 月 11 日）

1. 漁場の環境構造　松平近義（東北大）
2. 浅海養殖場に見られる漁場の疲弊現象　今井丈夫（東北大）
3. 漁場の遷移　川名　武（東海水研）
4. 漁場適地の標示　古川　厚（内水研）
5. 漁場の耕耘と作澪　倉掛武雄（愛水試）

産業廃水に関するシンポジウム

I. 廃水の生物学的研究について（10 月 10 日）

1. 有機質廃水の流下する河川の底土中における硫化物の生成機構について　木俣正夫・○門田　元・畑　幸彦・三好英夫（京大）
2. 水質汚濁に関する生物学的判定法について　藤谷　超（内水研）
3. 水質汚濁の生物学的判定法について　今井丈夫・佐藤隆平・○伊藤　進（東北大）
4. 水産生物に対する水質基準の考え方　松江吉行（東大）

5. 農薬の使用と内水面漁業管理との関連　木村関男（淡水研）
6. 海水面に於ける水質汚濁の生学物的判定法について　大久保勝夫（東海水研）

Ⅱ. 産業廃水の綜合的研究について（10 月 11 日）

1. 北海道に於ける鉱工業廃水　五十嵐彥仁（北海道水研）
2. 洗炭廃水による河川及沿岸水域の水質汚濁について　多賀信夫（東大）
3. 八ケ岳硫黄鉱山開廃に関連した水質汚濁の防止に関しての諸問題　町田喜弘（淡水研）
4. ダム放水が島勝漁場に及ぼす影響の研究　深井麟之助（東海水研）
5. 名古屋港附近の水質汚濁の二，三の例　田村保（名大）
6. 瀬戸内海沿岸の工業廃水研究　新田忠雄（内水研）
7. 三田尻湾及び下関周辺水域の水質汚濁について　赤築敬一郎・早山万彥（水講）
8. 石炭ガス工場廃水の処理について　赤築敬一郎（水講）
9. 水中微量パラチオンの定量法　石尾真彌・福島信明・富山哲夫（九大）

○訂　正 (ERRATA)

第 22 巻 7 号

頁	行	誤	正
397	上から 12	**Observetions**	**Observations**
444	上から 16	「……dacteria」	「……bacteria」

昭和 32 年度　日本水産学会年会予告

期　日　昭和 32 年 4 月 3 日 — 5 日

会　場　東海区水産研究所及び月島第二中学校（水研裏）

研究発表申込締切期日　昭和 32 年 1 月 31 日（**厳守**）

講演要旨締切期日　昭和 32 年 2 月日 15（**厳守**）

○詳細は学会誌 22 巻 7 号表紙の次の挾込を御覧下さい。

原子力シンポジウムの日程及び会場

期　日　昭和 32 年 1 月 13，14，15 日

（農水産関係の発表は 15 日午後 1 時から）

会　場　東京大学工学部

昭和三十一年十二月二十日　印刷
昭和三十一年十二月二十五日　発行

第二十二巻　第八号

本号定価 120 円（送料別）

編集兼発行者　松江吉行
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内

発行所　日本水産学会
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内
振替口座　東京　59529番

印刷者　篠原收二
印刷所　東海出版印刷株式会社
発売所　東海出版印刷株式会社
東京都中野区江古田 3 の1223
電話中野 (38) 4101•9108